

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

TATIANE ANDREIA SCHWINGEL

A TOPOGRAFIA DA ZONA DE TRANSFORMAÇÃO E AS ALTERAÇÕES
CITOLÓGICAS NUMA POPULAÇÃO DE MULHERES NA PÓS MENOPAUSA

CURITIBA

2020

TATIANE ANDREIA SCHWINGEL

A TOPOGRAFIA DA ZONA DE TRANSFORMAÇÃO E AS ALTERAÇÕES
CITOLÓGICAS NUMA POPULAÇÃO DE MULHERES NA PÓS MENOPAUSA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tocoginecologia e Saúde da Mulher, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Tocoginecologia e Saúde da Mulher.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rita Maira Zanine

CURITIBA

2020

S415 Schwingel, Tatiane Andreia
A topografia da zona de transformação e as alterações
citológicas numa população de mulheres na pós menopausa
[recurso eletrônico] / Tatiane Andreia Schwingel. – Curitiba, 2021.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em
Tocoginecologia. Setor de Ciências da Saúde. Universidade
Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rita Maira Zanine

1. Pós-menopausa. 2. Terapia de reposição de estrogênios.
3. Terapia de reposição hormonal. I. Zanine, Rita Maira.
II. Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia. Setor de
Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

NLM: WP 580

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE, BIBLIOTECÁRIA: RAQUEL PINHEIRO COSTA
JORDÃO CRB 9/991



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO TOCOTECOLOGIA E
SAÚDE DA MULHER - 40001016084P2

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em TOCOTECOLOGIA E SAÚDE DA MULHER da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de TATIANE ANDREIA SCHWINGEL intitulada: A topografia da zona de transformação e as alterações citológicas numa população de mulheres na pós menopausa, sob orientação da Profa. Dra. RITA MAIRA ZANINE, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

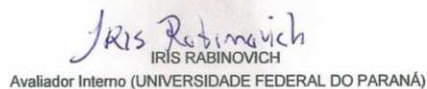
CURITIBA, 16 de Dezembro de 2020.


RITA MAIRA ZANINE

Presidente da Banca Examinadora


JAN PAWEL ANDRADE PACHNICKI
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE POSITIVO)


SHELDON RODRIGO BOTOGOSKI
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)


IRIS RABINOVICH
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Dedico este trabalho:

Ao meu esposo, Adriano M. Segatto do Nascimento por sempre me incentivar, amar e apoiar as minhas decisões, mesmo que em detrimento de minha atenção.

Aos meus pais, alicerces da minha vida, que sempre me proporcionaram oportunidades melhores e me fizeram dar valor ao conhecimento. Aos meus irmãos, todo o amor!

Aos meus sobrinhos e família, pelo tempo que deixamos de compartilhar.

AGRADECIMENTOS

À DEUS, pelas bênçãos recebidas.

À Prof^a. Dr^a. Rita Maria Zanine, pela dedicação nas correções e orientações neste período de aprendizado, bem como pelo vasto conhecimento dividido, paciência e generosidade em me orientar em todos os momentos necessários.

À minha equipe de trabalho, que se mostrou solícita e em especial à acadêmica de medicina Leila Reis, que me auxiliou imensamente quando precisei.

A todos aqueles que de alguma forma dispuseram de seu tempo e atenção para me ajudar.

Aos funcionários do Setor de Arquivo de Prontuários Médicos do Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná pela separação de inúmeros prontuários, em especial ao servidor Vinícius Machado Mikosz, sempre disposto a solucionar os pedidos.

Aos meus colegas de pós-graduação por compartilharem essa experiência comigo.

Por mais que na batalha se vença um ou mais inimigos, a vitória sobre si mesmo é a maior de todas vitórias.

Buda

RESUMO

O hipoestrogenismo dificulta a realização da colposcopia devido a inacessibilidade da zona de transformação; prejudica a interpretação dos exames citopatológicos com manejos deletérios. A diferenciação de esfregaços atróficos dos neoplásicos verdadeiros é fundamental para uma conduta adequada. Os objetivos deste estudo foram verificar se o uso do estrogênio tópico afeta a topografia da zona de transformação no exame colposcópico, se facilita a diferenciação entre as alterações citológicas secundárias a atrofia das verdadeiras lesões intraepiteliais neoplásicas; e se pode ser útil para definir o manejo efetivo na pós menopausa. Estudo transversal, retrospectivo de prontuários eletrônicos de mulheres com 50 anos ou mais realizado no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná entre 01/2010 e 02/2019. Foram elegíveis 98 mulheres em pós-menopausa com alteração citológica compatível com ASC (Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado), LSIL (Lesão Intraepitelial de Baixo Grau), HSIL (Lesão Intraepitelial de Alto Grau) e AGC (Células Glandulares Atípicas), cuja colposcopia inicial era negativa, que foram submetidas a uso de estrogênio tópico e fizeram controle citológico e colposcópico. RESULTADOS: A média de idade foi de 57 anos e do tempo de menopausa de 9,5 anos. O uso do estrogênio local modificou a colposcopia satisfatória de 20,4% para 32,7%. As pacientes com exame citológico LSIL evoluíram, para negativo em 55,6% dos casos. Das com ASC-US inicial, 77,1% ficaram negativas. Obteve-se 33,7% ASC-H das quais, após estrogenização, 69,7% estavam negativas no primeiro exame ($p < 0,001$). Já aquelas que inicialmente apresentavam citologia oncológica HSIL (6,1%), 16,7% estavam negativas. O estrogênio conjugado tópico não mostrou uma boa resposta na eversão da zona de transformação. Já a citologia mostrou melhora na quantidade de falso-positivos. O tempo de uso adequado do estrogênio foi de 3 meses.

Palavras-chave: Atrofia. Pós-menopausa. Terapia de reposição do estrogênio.

ABSTRACT

Hypoestrogenism has difficulty performing colposcopy due to the inaccessibility of the transformation zone; impairs the interpretation of cytopathological tests leading to deleterious management. The differentiation of atrophic smears from true neoplasms is fundamental for proper management. The study aim was to determine if the use of topical estrogen affects the topography of the transformation zone in colposcopic examination. If it improves the design between cytological changes secondary to atrophy of true neoplastic intraepithelial lesions and their effective management in post menopause. A transversal and retrospective study was carried out throughout electronic data base research from women medical files with 50 years of age or more, obtained from the Hospital de Clínicas do Paraná, from 01/2010 to 02/2019. Women eligible patients were considered and were sent due to cytological alteration compatible with ASC, LSIL, HSIL, AGC whose initial colposcopy was negative, which were subjected to the use of topical estrogen and made cytological and colposcopic procedure, which constituted a 98-women sample control. The average age was 57 years old, and the average menopause time was 9.5 years. The use of local estrogenic therapy changed the satisfactory colposcopy from 20.4% to 32.7%. Patients with initial cytology LSIL involved in the first cytology after the use of estrogen with 55.6% negative. Of the women who had initial cytology HSIL (6.1%), only 16.7% were negative. There was a relatively high amount of initial ASC-H in this age group (33.7%) of which, after estrogenization, 69.7% were negative in the first return exam ($p < 0,001$). Topical conjugated estrogen did not bring a good response in the eversion of the transformation zone. On the other hand, cytology after estrogenization shows an improvement in the number of false-positives. The adequate use time of estrogen was 3 months.

Key words: Atrophy. Post-Menopause. Estrogen therapy.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - CICLO DE VIDA DO PAPILOMA VÍRUS HUMANO E INTEGRAÇÃO DO SEU GENOMA.....	36
FIGURA 2 -TIPOS DE ZONA DE TRANSFORMAÇÃO E DE EXCISÃO DA ZONA DE TRANSFORMAÇÃO	48
FIGURA 3 - COLO UTERINO NORMAL AO COLPOSCÓPIO.....	49
FIGURA 4 - COLO UTERINO ATRÓFICO	53
FIGURA 5 - FLUXOGRAMA DE PACIENTES	59

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - PROPORÇÃO DE AMOSTRAS QUANTO A ZONA DE TRANSFORMAÇÃO ANTES DA ESTROGENIZAÇÃO	67
GRÁFICO 2 - PROPORÇÃO DE AMOSTRAS QUANTO A ZONA DE TRANSFORMAÇÃO APÓS O USO DO ESTROGÊNIO.....	67
GRÁFICO 3 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA CITOLOGIA APÓS USO DE ESTROGÊNIO TÓPICO POR 3 MESES	71
GRÁFICO 4 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA CITOLOGIA APÓS USO DE ESTROGÊNIO TÓPICO APÓS 12 MESES	71
GRÁFICO 5 - EFEITO DA TERAPIA COM ESTROGÊNIO E FATOR TEMPO	72

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - NOMENCLATURAS CITOPATOLÓGICA E HISTOPATOLÓGICA.....43

QUADRO 2 - TERMINOLOGIA COLPOSCÓPICA DO COLO UTERINO50

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - DISTRIBUIÇÃO DAS CATEGORIAS CITOLÓGICAS DE ENTRADA...	66
TABELA 2 - ASSOCIAÇÃO ENTRE OS ACHADOS CITOLÓGICOS E O EXAME COLPOSCÓPICO	66
TABELA 3 - ASSOCIAÇÃO ENTRE CITOLOGIA DE ENTRADA E CITOLOGIA APÓS ESTROGENIZAÇÃO.....	69
TABELA 4 - EVOLUÇÃO DA CITOLOGIA PÓS ESTROGÊNIO TERAPIA EM 3 E 12 MESES	72

LISTA DE SIGLAS

AGC	-	Células Glandulares Atípicas ou <i>Atypical Glandular Cells</i>
ASC-H	-	Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado Quando Não se Pode Excluir Lesão Intraepitelial de Alto Grau
ASC-US	-	Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado, Possivelmente Não Neoplásicas
CIS	-	Carcinoma <i>in situ</i>
DNA	-	Ácido Desoxirribonucleico
HPV	-	<i>Human Papillomavirus</i>
HSIL	-	<i>Hi-grade Squamous Intraepithelial Lesion</i> ou Lesão Intraepitelial de Alto Grau
ITU	-	Infecção do Trato Urinário
JEC	-	Junção Escamo-colunar
LSIL	-	<i>Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion</i> ou Lesão Intraepitelial de Baixo Grau
NIC	-	Neoplasia Intraepitelial Cervical
SISCAN	-	Sistema de Informação do Câncer
UFPR	-	Universidade Federal do Paraná
ZT	-	Zona de Transformação

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 JUSTIFICATIVA	19
1.2 OBJETIVOS	19
2 REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 O COLO UTERINO: ANATOMIA, FISIOLOGIA E HISTOLOGIA	20
2.1.1 O Epitélio Escamoso	20
2.1.1.1 O padrão atrófico da pós-menopausa	22
2.1.1.2 O efeito proliferativo do estrogênio	22
2.1.1.3 Efeito secretório da progesterona	23
2.1.1.4 A resposta aos estímulos hormonais	23
2.1.2 O Epitélio Glandular	23
2.1.3 A Junção Escamo-Colunar	24
2.1.4 O Estroma Cervical	25
2.1.5 Os Receptores Hormonais	27
2.2 O PROCESSO ATRÓFICO NO EPITELIO UROGENITAL	28
2.2.1 Fisiologia	29
2.2.2 A Estrogenização Tópica Vaginal	31
2.3 OS FATORES DE RISCO E A INFECÇÃO PELO PAPILOMA VÍRUS HUMANO	33
2.3.1 História Natural da Infecção pelo Papiloma Vírus Humano no Câncer de Colo do Útero	35
2.3.2 A Infecção pelo Papiloma Vírus Humano nas Mulheres na Maturidade	37
2.3.3 A Neoplasia Intraepitelial Cervical No período do climatério	39
2.4 OS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS	41
2.4.1 O Exame Citopatológico	41
2.4.1.1 As alterações epiteliais cervicais no período do climatério	44
2.4.2 A Colposcopia	46
2.4.2.1 A interferência do climatério na acurácia da colposcopia	51

2.4.3 O Exame Histopatológico	53
2.4.4 A Biologia Molecular	54
3 MATERIAL E MÉTODOS	57
3.1 TIPO DE ESTUDO	57
3.2 HIPÓTESE DE ESTUDO	57
3.3 LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO	58
3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	58
3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	58
3.6 AMOSTRA E TÉCNICA DE AMOSTRAGEM	58
3.7 VARIÁVEIS DE ESTUDO	60
3.8 PROCEDIMENTOS DE ESTUDO	60
3.8.1 Citologia	60
3.8.2 Colposcopia	61
3.8.3 Histopatologia	62
3.8.4 Revisão dos prontuários	62
3.9 TABULAÇÃO E GERENCIAMENTO DE DADOS	63
3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA	63
3.11 ÉTICA EM PESQUISA	64
3.12 MONITORIZAÇÃO DA PESQUISA	64
4 RESULTADOS	65
5 DISCUSSÃO	73
5.1 LIMITAÇÕES DO ESTUDO	82
5.2 PERSPECTIVAS FUTURAS	82
6 CONCLUSÃO	83
REFERÊNCIAS	84
ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS DO COMPLEXO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	99

1 INTRODUÇÃO

Estima-se, atualmente, que o câncer do colo do útero acometa cerca de um milhão de mulheres em todo o mundo. É o terceiro tumor mais frequente na população feminina, atrás do câncer de mama e do colorretal, e a quarta causa de morte de mulheres por câncer no país (INCA, 2020).

Segundo os últimos dados do Ministério da Saúde, a estimativa de casos novos no Brasil é de 16.590 para o triênio de 2020-2022, com risco estimado de 15,43 casos a cada 100 mil mulheres. De acordo com os dados do Sistema de Informação do Câncer (SISCAN), em 2019, foram relatados 965 novos casos de carcinoma invasor epidermóide na população geral e destas, 540 (aproximadamente 55,9%) mulheres estavam na faixa etária de 50 anos ou mais.

O período de rastreamento do câncer do colo uterino preconizado pelas diretrizes brasileiras é entre 25 e 64 anos. Sabe-se que um terço das mulheres que apresentam câncer de colo uterino está na faixa etária entre 50 e 64 anos. Mulheres com rastreamento negativo adequado na idade de 50 a 64 anos têm um sexto do risco de câncer cervical na idade de 65 a 83 anos em comparação com mulheres que não foram rastreadas (APGAR; BROTZMAN; SPITZER, 2008; CASTAÑÓN et al., 2014). É fato que o diagnóstico de novos casos de câncer de colo uterino está associado ao rastreio irregular ou ausente em todas faixas etárias (INCA, 2020).

O exame de prevenção do câncer do colo do útero pela técnica de Papanicolaou ainda é o mais importante exame de rastreamento de lesões pré-câncer e câncer difundido mundialmente, porque é barato, fácil de realizar, bem tolerado e não impõe risco importante à paciente (APGAR; BROTZMAN; SPITZER, 2008; CASTAÑÓN et al., 2014). A análise é feita pelo Sistema Bethesda para relato de citologia cervicovaginal, com a última atualização em 2014 (NAYAR; WILBUR, 2015). Um dos itens preconizados pelo Sistema Bethesda é o relato no laudo da adequação da amostra, que implica em evidência de material da zona de transformação (junção escamo-colunar), número mínimo de células escamosas presentes e ausência de fatores de obscurecimento da leitura das células, como presença de inflamação, sangue, ressecamento, entre outros. A paciente na pós menopausa e atrófica apresenta frequentemente material hipocelular, com fontes de erro que incluem dificuldades de amostragem, pela falta de acesso à junção escamo-colunar (JEC), alterações artefatuais e atipias reparativas e inflamatórias, bem como o mimetismo

que ocorre nas células parabasais e hiperchromasia nuclear (NAI et al., 2011; INCA, 2020;). Assim, as mulheres pós-menopausadas, com alterações citológicas do colo uterino, devem ser consideradas de maneira especial porque a citologia oncológica com alteração pode não ser necessariamente preditiva de lesão pré-neoplásica (HALFORD; WALKER; DUHIG, 2010).

Por outro lado, a colposcopia é o exame padrão-ouro na investigação de exames citopatológicos alterados, podendo confirmar ou não a presença de lesão, bem como delimitar a topografia da mesma e definir qual é a melhor área a ser biopsiada no caso de lesões suspeitas (MEEVASANA et al., 2014). A sensibilidade (87-99%) e a especificidade (23-87%) da colposcopia se comparam de forma favorável a outros métodos de teste diagnóstico (MITCHELL et al., 1996).

Devido ao processo atrófico causado pelo hipoestrogenismo, a JEC é mais comumente encontrada dentro do canal cervical, o que impede a sua visualização com consequente dificuldade para a delimitação da ZT. A topografia endocervical da ZT que na maioria das vezes significa um exame inadequado, faz com que o sítio das lesões não seja identificado, dificultando a abordagem das mesmas, principalmente em relação as biópsias, levando a procedimentos invasivos para diagnóstico como as abordagens cirúrgicas excisionais, que podem levar a sobretratamentos e outras comorbidades inerentes a este tipo de procedimento, além de aumentar os gastos para o sistema de saúde (MOORE et al., 2008).

O registro da taxa de 60% dos cânceres invasores nesta faixa etária remete à essa dificuldade no acesso ao canal cervical, impossibilitando um diagnóstico precoce das lesões precursoras do carcinoma de colo uterino (ELKINGTON, 1987; MAKKAR et al., 2014).

No Brasil, o Ministério da Saúde, por meio das Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do Colo do Útero, recomenda que sejam realizadas colposcopias em todas as pacientes com citologia de células escamosas atípicas de significado indeterminado de alto grau ou *Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance Can Not Exclude High Grade* (ASC- H)/lesão intraepitelial de alto grau (HSIL), independentemente da idade da paciente (INCA, 2016). Recomenda que as mulheres que apresentem atrofia devem ser submetidas a terapia local com creme de estrogênio, evitando, assim, excesso no número de exames citológicos de controle e também procedimentos diagnósticos invasivos, o que onera o sistema de saúde, além de ser causa de ansiedade para a mulher (INCA, 2016; OLIVEIRA et al., 2018).

1.1 JUSTIFICATIVA

O estado hipoestrogênico nas mulheres em período climatérico e pós menopausal dificulta a realização da colposcopia devido a inacessibilidade da ZT. Igualmente, a interpretação dos exames citopatológicos é prejudicada fazendo com que o número de falso-positivos e falso-negativos sejam a causa de manejos deletérios. A diferenciação de esfregaços atróficos dos neoplásicos verdadeiros é fundamental para uma conduta adequada, evitando iatrogenia de sobretratamento e possíveis falhas no diagnóstico das lesões precursoras e invasivas do carcinoma de colo uterino. É interessante observar que há poucos relatos latinoamericanos estudando a relação entre a atrofia genital em mulheres com mais de 50 anos e o efeito do uso de estrogênio conjugado na melhora das amostras citológicas e no exame colposcópico.

1.2 OBJETIVOS

a) Verificar se o uso do estrogênio tópico afeta a topografia da zona de transformação no exame colposcópico;

b) Verificar se o uso do estrogênio tópico facilita a diferenciação entre as alterações citológicas secundárias a atrofia das verdadeiras lesões intraepiteliais neoplásicas; e definir o manejo efetivo dessas alterações nas mulheres menopausadas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O COLO UTERINO: ANATOMIA, FISIOLOGIA E HISTOLOGIA

O colo é a porção mais caudal do útero e a sua origem é proveniente dos ductos paramesonéfricos de Müller, composto por duas porções: uma supravaginal, fixando-se no istmo uterino, tendo como limite superior o orifício cervical interno, e outra intravaginal, tendo limite inferior o orifício cervical externo. A ectocérvice corresponde a parte do colo visível na cavidade vaginal e se divide em lábio anterior (ou superior) e lábio posterior (ou inferior) e a endocérvice é a parte do colo correspondente ao canal cervical (BURGHARDT; OSTOR; MATTINGLY, 1991; JORDAN; SINGER, 2006).

A cérvice uterina é composta por tecidos fibroso (fibras colágenas) e fibras musculares lisas com vascularização feita principalmente pelo ramo descendente da artéria uterina, ramo da artéria ilíaca interna, fazendo anastomose com a vascularização vaginal. O retorno venoso se faz pela veia uterina, desembocando na veia ilíaca interna; a drenagem linfática segue para os linfonodos da cadeia ilíaca interna e obturadora e a inervação é feita pelo plexo anatômico pélvico (JORDAN, SINGER, 2006).

A porção visível do colo uterino é recoberta pelo epitélio escamoso estratificado que recobre a vagina e o ectocolo, enquanto o canal cervical é revestido pelo epitélio colunar monoestratificado.

2.1.1 O Epitélio Escamoso

O epitélio escamoso possui várias camadas que variam com a idade e com o aporte de estrogênio e seu balanço com a progesterona. As células próximas da membrana basal são imaturas e têm, assim, pouco citoplasma e núcleo grande. Em contraste, as células superficiais têm muito citoplasma com glicogênio e núcleo picnótico. Os vasos que suprem estas células são pequenos capilares que se encontram profundamente no estroma com ramificações que se estendem em 1/3 da espessura do epitélio. Especificamente estes vasos mantêm nutridas as células basais e as parabasais (ANDERSON; JORDAN; MORSE, 1992).

Na descrição do epitélio escamoso normal e alterado são utilizados termos como diferenciação, maturação e estratificação. Estes termos estão relacionados em significado, porém não são sinônimos.

a) Diferenciação

Diferenciação se refere ao processo no qual a célula escamosa se torna totalmente funcional apresentando-se com forma achatada e protetora. No epitélio normal, maturação e diferenciação são virtualmente sinônimos, isto é, as células se diferenciam à medida que amadurecem.

No epitélio alterado, em comum com outros estados pré-malignos e malignos, o termo diferenciação se refere a um grau de similaridade morfológica e funcional entre as células normais e anormais em todos os estados de maturação. Portanto, a equivalência de diferenciação com maturação diminui à medida que o epitélio se torna mais anormal.

b) Maturação

O processo de maturação está relacionado com a diferenciação em significado, e caracteriza as mudanças vistas nas células à medida que a superfície do epitélio escamoso normal é atingida. A célula escamosa madura também mostra boa diferenciação, mas uma célula escamosa imatura pode mostrar grau de diferenciação que permite que a mesma seja reconhecida como do tipo escamoso.

c) Estratificação

A estratificação é uma consequência natural da maturação e da diferenciação e se refere à maneira pela qual o epitélio é dividido em camadas de células progressivamente mais maduras e achatadas à medida que a superfície é alcançada.

O epitélio escamoso maduro da ectocérvice tem uma camada basal bem definida aderida a lâmina basal. Estas células têm relação núcleo citoplasma grande. As células parabasais formam as próximas poucas camadas e também exibem grande relação núcleo citoplasma com citoplasma preferencialmente basófilo. É nesta camada que ocasionais figuras de mitose são vistas (ANDERSON; JORDAN; MORSE, 1992).

Além disso, a maturação e diferenciação produzem as células intermediárias, nas quais o citoplasma é mais abundante, frequentemente com espaço proeminente contendo glicogênio ao redor do núcleo. O citoplasma se torna mais abundante à medida que a maturação progride e o núcleo se torna pequeno. Então, estas células na camada intermediária se tornam achatadas, com núcleos redondos de tamanho moderado, no qual o padrão de cromatina é prontamente discernível.

Uma maturação mais avançada das células escamosas produz a camada superficial do epitélio. Esta camada é composta por células marcadamente achatadas com citoplasma eosinofílico e pequenos núcleos levemente achatados. Neste estágio final de maturação os núcleos se tornam picnóticos, pequenos e muito densos, sem nenhuma estrutura nuclear discernível dentro dele.

A célula totalmente madura e diferenciada do epitélio escamoso é totalmente achatada e a sua natureza é melhor apreciada quando a célula é vista achatada no esfregaço citológico, em comparação com uma preparação histológica (COPPLESON; PIXLEY; REID, 1986).

2.1.1.1 O padrão atrófico da pós-menopausa

Nas mulheres que se encontram na pós-menopausa o padrão do esfregaço cervical é composto inteiramente de células parabasais e poucas intermediárias, com ausência de variações cíclicas e, raramente, com a presença de células glandulares (STIKA, 2010).

2.1.1.2 O efeito proliferativo do estrogênio

Após a menstruação a proporção de células superficiais em relação às células intermediárias cresce em direção ao meio do ciclo, quando o esfregaço é dominado por células superficiais, apesar de um número pequeno de células intermediárias ser visto (Vaginal Maturation Index: 80-90%). Neste ponto as células estão dispostas em camadas achatadas com fundo limpo e a presença de poucos polimorfonucleares (ANDERSON; JORDAN; MORSE, 1992; MAC BRIDE; RHODES; SHUSTER, 2010).

2.1.1.3 Efeito secretório da progesterona

Depois da ovulação o efeito do estrogênio, suprimido pela progesterona, é refletido numa proporção aumentada de células intermediárias em relação às superficiais. Neste ponto as células tendem a amontoar-se em grandes grupos com bordas celulares pobremente diferenciadas e arestas com dobramentos. Existe um aumento nos polimorfonucleares e debris no fundo que podem tornar a avaliação difícil, quando não impossível (ANDERSON; JORDAN; MORSE, 1992).

2.1.1.4 A resposta aos estímulos hormonais

O epitélio escamoso do colo é responsivo aos estímulos hormonais e é dependente do estrogênio para o seu desenvolvimento total. No caso de haver déficit de estrogênio ou os seus efeitos serem contrapostos por altas taxas de progesterona, as células superficiais não apresentam desenvolvimento total e, conseqüentemente, diferenciação completa (MAC BRIDE; RHODES; SHUSTER, 2010).

Após a menopausa as células não amadurecem mais do que o estágio parabasal. Como resultado o epitélio torna-se atrófico, isto é, fino e composto de células que tem relação núcleo citoplasma relativamente alta com ausência de achatamento das mesmas à medida que alcançam a superfície. Como a maturação não alcança o estágio intermediário o glicogênio está ausente. Aparência semelhante é vista nos estágios finais da gestação e mais marcadamente no puerpério. As alterações cíclicas são mais bem observadas nos esfregaços vaginais, mas também são visualizadas nos esfregaços cervicais.

A mudança mais marcante é a alteração da relação das células superficiais em relação as intermediárias durante o ciclo menstrual normal. Estas mudanças básicas podem ser avaliadas pelo índice cariopictórico que representa a porcentagem de células superficiais com núcleo picnótico para células intermediárias baseadas numa contagem mínima de 200 células (MAC BRIDE; RHODES; SHUSTER, 2010).

2.1.2 O Epitélio Glandular

O epitélio cilíndrico que recobre o endocolo é constituído por uma só camada de células com núcleo pequeno e quantidade moderada de citoplasma na porção

basal da célula. Os vasos estão diretamente abaixo das células colunares promovendo coloração vermelha na superfície (COPPLESON; PIXLEY; REID, 1986; ANDERSON; JORDAN; MORSE, 1992).

Em estado normal o epitélio colunar tem uma camada única de células altas com núcleo basal, com formação característica em paliçada. O citoplasma contém mucina finamente dispersa, algumas células ciliadas estão presentes e áreas de metaplasia tubária podem ser vistas nas criptas endocervicais. Este achado representa uma heterotopia mais do que propriamente uma metaplasia. Epitélio de tipo endometrial pode ser visto algumas vezes no colo. As células endocervicais são aproximadamente cinco vezes o tamanho de um linfócito e menor que uma célula escamosa madura. O diagnóstico diferencial entre uma célula parabasal e uma endocervical pode ser difícil (COPPLESON; PIXLEY; REID, 1986).

2.1.3 A Junção Escamo-Colunar

A junção entre os dois epitélios ou JEC pode ocorrer em vários locais durante a vida da mulher. Algumas vezes pode estar ao nível do orifício cervical externo e em outras ocasiões, como na pós-menopausa, pode adentrar o canal cervical. Na menacme geralmente ela se localiza na ectocérvice, quando é denominada de ectopia ou ectrópio. Este achado corresponde a um fenômeno fisiológico muito comum e não requer tratamento. Na verdade, é uma resposta do organismo a alta concentração de estrogênio como ocorre na puberdade, gestação e nas usuárias de anticoncepcional hormonal combinado. Em 4% da população a JEC pode se externar até o fórnice vaginal ou mesmo até as paredes vaginais (BURKE; MATHEWS, 1977).

A JEC é transitória e dinâmica, presumivelmente resultado de alta concentração plasmática de estrogênio e pH baixo da vagina. O epitélio cilíndrico original é substituído pelo escamoso metaplásico e uma nova JEC ocorre entre o epitélio colunar original e as áreas transformadas. Esta nova junção está sujeita a um processo de transformação similar ao anteriormente citado.

O processo metaplásico é multifocal e o epitélio metaplásico escamoso é geralmente identificado na margem externa do epitélio cilíndrico adjacente ao tecido escamoso. Frequentemente se apresenta como ilhotas dentro do epitélio cilíndrico (COPPLESON; PIXLEY; REID, 1986; ANDERSON; JORDAN; MORSE, 1992).

A transformação fisiológica do epitélio cilíndrico em escamoso ocorre durante todo o período da vida, sendo mais ativa na vida fetal e neonatal, na menarca e na gestação (MOSSA, et al., 2001). Estes períodos correspondem aos de maior produção estrogênica, que aumentam a eversão epitelial. O estrogênio promove pH ácido na vagina, esta acidez favorece a metaplasia e a transformação completa do epitélio cilíndrico em escamoso leva anos para ocorrer. O processo resulta no desenvolvimento de um novo epitélio escamoso que inicialmente é imaturo e quando alcança a maturidade não é mais um local para a formação de câncer. A metaplasia madura é um local de mudança permanente. Ao contrário, um processo metaplásico inicial torna-se vulnerável a mudança genética (BURKE, 1977; BURGHARDT; OSTOR; MATTINGLY et al., 1991).

As células colunares nos topos dos vilos são substituídas por várias camadas de células cubóides. O epitélio metaplásico escamoso se origina de células estromais multipotentes que se encontram subjacentes ao epitélio colunar, ou células de reserva, que se tornam visíveis somente quando o processo metaplásico se inicia, onde então aumentam em número antes de se diferenciarem. A metaplasia ocorre dentro da ZT. O processo imaturo consiste em 6 a 8 camadas de células indiferenciadas que sofrem um processo de maturação gradual. O epitélio metaplásico indiferenciado é difícil de ser distinguido do displásico histologicamente, devido a alteração da relação núcleo citoplasma. Ele não é glicogenado e não fixa o lugol (COPPLESON; PIXLEY; REID, 1986; LEV-SAGIE, 2015).

No final do processo metaplásico ocorre obliteração das estruturas dos vilos e uma superfície lisa pluriestratificada com epitélio diferenciado é produzida. Muitas ilhas de epitélio cilíndrico permanecem e aparecem os cistos de Naboth. A última característica da diferenciação é sua transformação em um tecido escamoso totalmente diferenciado que é dificilmente distinto do epitélio escamoso original (COPPLESON; PIXLEY; REID, 1986; BURGHARDT; OSTOR; MATTINGLY et al., 1991).

2.1.4 O Estroma Cervical

O estroma do colo uterino é fibromuscular. As camadas perto da superfície são predominantemente compostas de tecido fibroso, com a camada muscular se situando mais profundamente. O tecido muscular é mais superficial abaixo do epitélio

da ectocérvice do que o do endocolo (NARICE et al., 2016). Muitos pequenos vasos estão presentes no estroma cervical, formando um plexo subepitelial abaixo do epitélio colunar. Estes, juntos com os vasos dentro do vilo endocervical, contribuem para formação das características anormais dos padrões vasculares de mosaico e pontilhado (ZORK; MYERS; YOSHIDA, 2015). O estroma superficial quase invariavelmente contém um infiltrado de células inflamatórias, usualmente células plasmáticas e linfócitos, particularmente na região da JEC. A não ser em casos extremos, este infiltrado não é considerado patológico e representa uma resposta a um estímulo de baixo grau por vários fatores antigênicos (OXLUND et al., 2010).

A camada muscular é formada por fibras isoladas de tecido muscular liso incluídos em uma matriz de tecido conectivo fibroso constituído por fibras elásticas de reticulina e colágeno. A porcentagem de fibras musculares correspondente ao estroma pode ser de 10% a 15%, mas pode se elevar até 40% a 50%. São mais desenvolvidas ao redor dos vasos e na parte mais próxima da cavidade uterina, de tal maneira que diminui à medida que se distancia do istmo, de modo que junto ao istmo pode-se encontrar ao redor de 10% de fibras musculares lisas, diminuindo em 8% no meio do canal cervical, para ser somente de 4% próximo ao ectocérvice (ZORK; MYERS; YOSHIDA, 2015; NARICE et al., 2016).

As fibras musculares originárias do corpo uterino se estendem perifericamente até a vagina. Esta pouca quantidade de tecido muscular e este excesso de tecido fibroso dá origem à chamada estrutura de tendão do colo uterino.

A transição entre o tecido muscular do corpo para o tecido fibroso é abrupta, porém pode ser gradual em um espaço de 5 a 10mm. A maior parte do núcleo do estroma cervical é formada por fibras colágenas (ZORK; MYERS; YOSHIDA, 2015; NARICE et al., 2016).

A formação do segmento uterino inferior tem como base um processo de despolimerização destas fibras e quanto à orientação espacial, postula-se que esta estrutura fibrosa esteja mais concentrada imediatamente abaixo dos epitélios onde abundam as fibras elásticas.

Alguns estudos apontam para a estrutura estromal ser composta por 3 camadas no colo uterino:

- 1) Capa parietal externa, pela qual decorrem as fibras musculares que se irradiam da vagina e que contém número relativamente abundante de fibras elásticas

que seguem o curso das primeiras. Esta camada se adelgaça até o istmo e se perde na prega de reflexão peritoneal;

2) Uma camada média com fibras muito menos desenvolvidas que cursa em forma de funil até o orifício cervical externo;

3) Uma camada mais interna que apresenta poucas fibras elásticas.

Esta ordenação típica em camadas das fibras (fundamentalmente elásticas) alcança sua maturação completa na puberdade (NARICE et al., 2016).

A orientação em forma de funil tem a função de manter o orifício cervical externo fechado como um mecanismo de proteção. Nas múltiparas e nas eversões da mucosa cervical este funil fibroso desloca a sua ponta para o exterior, perdendo a sua função. O epitélio cervical não tem vasos. Se nutre por difusão a partir da rede capilar que existe por baixo do epitélio. Os vasos apresentam, em conjunto, uma imagem ordenada que reflete fielmente a forma de crescimento do epitélio que os recobre (JORDAN; SINGER, 2006).

2.1.5 Os Receptores Hormonais

As características dos epitélios cervicais são consequência de intrincadas interações entre os hormônios esteroides sexuais e os receptores hormonais dos tecidos alvo. Neste aspecto os receptores de estrogênio e progesterona são os mais importantes. Utilizando um método autorradiográfico, Stumpf et al., em 1998, encontraram presença de locais de ligação de estrogênio nas células escamosas e estromais do colo. Mais recentemente estudos de imuno-histoquímica mostraram que somente os receptores de estrogênio, e não os de progesterona, estão presentes no epitélio escamoso cervical. Estes receptores estão localizados principalmente nas células basais, com uma única expressão fraca ocasionalmente nas células parabasais e intermediárias (CANO et al., 1990). A expressão do receptor estrogênico desaparece à medida que a maturação celular progride na direção do estrato superficial do epitélio (STUMPF et al., 1998).

No epitélio endocervical, tanto os receptores de estrogênio como a progesterona podem ser demonstrados (IBEANU et al., 2010). A redução da expressão do receptor de estrogênio está ausente durante a fase secretória do ciclo menstrual, porém a expressão do receptor de progesterona não é afetada pela

flutuação dos hormônios endógenos. Uma forte expressão de receptor estrogênico é vista no epitélio metaplásico (ELSON et al., 2000).

Um estudo de Remoue et al., em 2003, mostrou que as expressões de receptores de estrogênio e progesterona são maiores na ZT em relação a ectocérvice, particularmente nas células hormônio receptoras que estão localizadas na camada parabasal e intermediária.

Parece que as células metaplásicas imaturas têm maior densidade de células receptoras hormonais positivas comparadas com as do epitélio ectocervical, as quais são predominantemente células epiteliais originais (REMOUE et al., 2003).

Estudos em ratos mostram que os receptores de estrogênio têm papel crítico na diferenciação e maturação escamosa. Durante o ciclo menstrual o estrogênio induz a proliferação e diferenciação escamosa do epitélio cervical, enquanto a progesterona mantém o epitélio colunar simples do endocérvice (COELHO et al., 2004). O papel regulador do estrogênio em humanos pode ser medido por dois tipos de receptores distintos, alfa e beta (WANG et al., 2001; MUSTAFA; ELHANBALY, 2020).

Apesar da falta de total elucidação do papel exato de cada um dos receptores, evidências sugerem que níveis baixos de receptores estrogênio alfa e altos níveis de receptores de progesterona estão associados com índice aumentado de apoptose nas células epiteliais (YANG et al., 2019). A distribuição específica de receptores de estrogênio e progesterona e suas interações com os hormônios sexuais determinam a dinâmica do epitélio cervical em condições fisiológicas e também determinam a resposta deste tecido a terapia estrogênica exógena.

Resumindo, os esteróides gonadais regulam a expressão de estrogênio e progesterona de maneiras diferentes ao longo do aparelho genital da mulher, sugerindo que os tecidos alvo respondem diferentemente aos mesmos níveis dos hormônios circulantes (MUSTAFA; ELHANBALY, 2020).

2.2 O PROCESSO ATRÓFICO NO EPITELIO UROGENITAL

No climatério, a produção ovariana de estrogênio diminui gradualmente com consequente perda do suporte hormonal dos tecidos dependentes de seu estímulo. Durante a idade reprodutiva, os níveis de estradiol geralmente variam de 30-40pg/mL na fase folicular inicial, para mais de 200pg/mL na ovulação. No período menopausal,

os níveis de estradiol caem para menos de 20pg/mL (BRIDE; RHODES; SHUSTER, 2010; STIKA, 2010).

A medição rotineira do hormônio folículo estimulante é desnecessária e pouco acrescenta ao diagnóstico do *status* menopausal em uma mulher com idade de 45 anos ou mais que apresente irregularidade do ciclo e sintomas claros de deficiência de estrogênio (PARKER, 2005).

A Síndrome Geniturinária do Climatério, previamente conhecida como atrofia vulvovaginal ou vaginite atrófica ou atrofia urogenital, é uma alteração crônica e progressiva do trato genital e urinário caracterizada por alterações fisiológicas em consequência ao hipoestrogenismo decorrente da menopausa (MAC BRIDE; RHODES; SHUSTER, 2010; PALACIOS; MEJIA; NEYRO, 2015).

O grau de atrofia de todo o sistema reprodutor feminino varia entre as mulheres. Clinicamente, a progressão da atrofia está relacionada com menores volumes e tamanho da vagina e colo do útero, podendo, em casos extremos, cursar com processo inflamatório concomitante (STIKA, 2010; CALLEJA-AGIUS; BRINCAT, 2015; PALACIOS; MEJIA; NEYRO, 2015; PANAY, 2015).

2.2.1 Fisiologia

Os receptores de estrogênio alfa e beta são expressos ao longo do epitélio escamoso, tecido conjuntivo e músculo liso da vulva, vagina, uretra e trígono da bexiga e modulam a proliferação e maturação celular durante os anos reprodutivos de uma mulher (STIKA, 2010; TABRIZI, 2018). Sem o estímulo estrogênico, podem ocorrer alterações no interior da derme vulvar, na cavidade vaginal e na mucosa urogenital. Na camada dérmica da vulva, as fibras de colágeno se fundem e sofrem hialinização, causando diminuição da mesma, enquanto as fibras de elastina são fragmentadas. O resultado dessas mudanças se traduz por perda global de elasticidade da pele e mucosa (STIKA, 2010; WEBER; LIMPENS; ROOVERS, 2015). Concentrações do mucopolissacarídeo intercelular e ácido hialurônico dentro da derme diminuem, o que reduz a hidratação da mucosa. A vagina perde suas pregas que conferem sua distensibilidade, com posterior encurtamento e estreitamento. A mucosa vaginal, o introito e os pequenos lábios tornam-se finos e pálidos. Há um afinamento do epitélio, alteração da aparência e da função das células musculares lisas e aumento da densidade do tecido conjuntivo (TABRIZI, 2018).

A vascularização circundante, que é altamente estrogênio dependente, também diminui dentro das camadas própria e adventícia (BRIDE; RHODES; SHUSTER, 2010; STIKA, 2010). Como o introito se retrai e há perda de elasticidade, frequentemente ocorre queixa de dispareunia de entrada. Ainda em consequência ao hipoestrogenismo há diminuição da lubrificação, maior friabilidade, diminuição da flexibilidade e aumento do pH vaginal (GANDHI et al., 2016; TABRIZI, 2018).

O colo do útero, por sua vez, torna-se plano, pálido e repleto de petéquias. A JEC e em consequência, a ZT, apresentam retração para dentro do canal cervical, ou seja, a ectocérvice é retraída para a endocérvice, muitas vezes seguidas por estenose do orifício cervical externo, gerando dificuldade de acesso à mesma. Como consequência deste processo, um grande número de exames colposcópicos insatisfatórios podem ocorrer à medida que a idade avança. A qualidade do esfregaço citológico pode se alterar em decorrência da estenose cervical, que dificulta a coleta do mesmo, aumentando o número de lâminas com falta de representatividade de células da ZT (MAC BRIDE; RHODES; SHUSTER, 2010; GANDHI et al., 2016; BACKES et al., 2019).

As alterações que ocorrem na flora vaginal, e sua significância em relação à Síndrome Genituriária do Climatério, estão sendo examinadas em vários estudos com foco nos microbiomas vaginais. Uma flora vaginal saudável, de uma mulher na menacme, é composta por uma variedade de bactérias aeróbicas e anaeróbicas, gram-positivas e gram-negativas (MUHLEISEN; HERBST-KRALOVETZ, 2016). Os *Lactobacillus* vaginais predominantes metabolizam a glicose em ácido láctico e ácido acético, baixando o pH vaginal entre 3,5-4,5. Essa acidez da vagina fornece proteção natural contra infecções do trato urinário (ITU) e também da vagina, impedindo o crescimento de bactérias (GLINIEWICZ et al., 2019). O estrogênio é vital para modular as defesas inatas do trato urinário (WEBER; LIMPENS; ROOVERS, 2015; GANDHI et al., 2016).

A queda do estrogênio é responsável pela redução dos *Lactobacillus* vaginais, o que faz com que os níveis vaginais de glicogênio diminuam, alterando o fluido vaginal para um pH alcalino igual ou maior que 5,0, o que promove o crescimento excessivo de bactérias da flora fecal como os *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Coliformes* (são grupos de bactérias indicadoras de contaminação e são formados pelos gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella*), e bacilos *Difteroides* (bacilos Gram-positivos) que induzem infecção,

inflamação vaginal e ITU. Ainda, na pós-menopausa, a falta de estrogênio prejudica o tecido conjuntivo e causa disfunção do esfíncter uretral, muitas vezes acompanhado de incontinência urinária (WEBER; LIMPENS; ROOVERS, 2015; GANDHI et al., 2016; GLINIEWICZ et al., 2019).

Embora algumas espécies de *Candida sp* sejam consideradas parte da flora vaginal normal, as mulheres na menopausa podem desenvolver sintomas de candidíase vulvovaginal, embora de ocorrência mais rara, já que o fungo cresce mais prontamente em local rico em estrogênio e glicogênio. Quando se faz a reposição estrogênica, a candidíase pode ficar mais frequente (STIKA, 2010).

2.2.2 A Estrogenização Tópica Vaginal

O estrogênio é um hormônio esteroide que está diretamente envolvido em funções orgânicas como regulação do crescimento, diferenciação sexual e metabolismo nos mamíferos. Na mulher na pré-menopausa, a principal fonte de estrogênio é a produção pelas células da teca e granulosa ovarianas. Na teca ocorre a produção de androgênio, o qual é convertido nas células da granulosa pela enzima aromatase em estrogênio (BERNE et al., 2004).

Na mulher na pós-menopausa, a principal fonte de estrogênio é extragonadal, sendo o tecido adiposo, o qual expressa as enzimas aromatase e 17-beta-hidroxiesteroide, o principal responsável pela sua produção (LABRIE et al., 2017).

Já utilizado há bastante tempo, com esquemas terapêuticos que variam conforme os serviços, o estrogênio conjugado tópico vaginal tem apresentado resultados extremamente satisfatórios na reversão dos sinais e sintomas relacionados à atrofia. Os estrogênios tópicos, isoladamente, fornecem estrogênio suficiente para reduzir os sintomas e reverter as condições epiteliais vaginais atroficas. O tratamento limita a absorção sistêmica por evitar o metabolismo hepático. Assim, o uso adicional de progesterona não é necessário para prevenir a hiperplasia endometrial ou câncer. De acordo com a *North American Menopause Society*, os estrogênios vaginais de baixa dose diminuem o pH vaginal, aumentam o número de *Lactobacillus* vaginais, melhoram a qualidade da citologia cervical, vaginal e uretral e previnem a ITU frequente. Os ensaios vaginais de estrogênio tópico também demonstraram alívio dos sintomas urinários de urgência, frequência urinária, nictúria e incontinência urinária de esforço/urgência. Os comprimidos, cremes e anéis vaginais são as vias empregadas

para a administração de baixa dose de estrogênio local. O Banco de Dados Cochrane de Revisões Sistemáticas de 2006 afirmou que todos os tipos são igualmente eficazes na resolução da dispareunia, prurido vaginal e secura (NAMS, 2007; REES et al., 2012; PALACIOS et al., 2015; FERNANDES et al., 2016; FARRELL, 2017).

Em 2014, uma revisão sistemática nos Estados Unidos da América incluiu 44 estudos: 14 estudos compararam estrogênio vaginal com placebo, 18 estrogênio tópico com outro estrogênio vaginal e os outros 10 estrogênio (por várias vias) ou estrogênio vaginal com hidratantes não hormonais ou lubrificantes. Concluíram que, em comparação com o placebo, houve melhora geral dos sintomas pelos estrogênios, como a dispareunia, secura, prurido/ardência, urgência urinária, frequência urinária, incontinência e diminuição das taxas de ITU. As várias formulações vaginais de estrogênio tiveram eficácia, segurança semelhantes e casos extremamente raros de hiperplasia endometrial e adenocarcinoma (RAHN et al., 2014; IGLESIA, 2016).

Na avaliação da potência biológica de um hormônio estrogênio Papers et al. (2011) observaram dependência de fatores extrínsecos e intrínsecos. Fatores extrínsecos, como adsorção, distribuição, metabolismo e eliminação são difíceis de prever com antecedência em estudos *in vivo* e continuam a representar desafios no desenvolvimento de medicamentos. Por outro lado, fatores intrínsecos como a afinidade de ligação ao receptor de estrogênio e recrutamento de coativadores, estão mais intimamente associados a uma resposta celular. Esses dados fornecem evidências de que a atividade biológica de diferentes estrogênios deriva não apenas de sua afinidade de ligação aos receptores, mas também da afinidade que têm para determinados coativadores. Além disso, indica que alguns estrogênios de ligação fraca podem ter sua potência amplificada nas células-alvo que expressam combinação específica de subtipos de receptores estrogênicos e coativadores.

O estrogênio conjugado foi o primeiro a ser estudado como reposição para melhora da atrofia, e, portanto, considerado um dos mais seguros devido a quantidade de estudos sobre ele. Para demonstrar, Kishi et al., no Japão, cita em 1983 que durante 5 anos foi utilizado o estrogênio conjugado oral em vários esquemas para o tratamento da colpíte atrófica. O que melhor resposta mostrou foi o de menor dose (1,25mg/d) por um período de 14 a 21 dias, resultando em colposcopia com melhora da visualização da JEC. Outro pesquisador, Chompootawee et al., 1998, estudou o mesmo estrogênio comparando o oral versus vaginal, assumindo que o de

uso local teve resultados significativos quanto à melhora da atrofia. (KISHI et al., 1983; CHOMPOOTAWEE, et al., 1998).

Este estrogênio passou a ser indicado nas Diretrizes Brasileiras já em 2011, visto que apresenta absorção sistêmica mínima, caracterizando a segurança em seu uso e permanecendo como indicação nas Diretrizes Brasileiras de 2011 e 2016. Até há pouco tempo era oferecido pelo Sistema Único de Saúde no rol de medicamentos financiados para a população (INCA, 2011, 2016).

Segundo a recomendação das Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do Colo do Útero, atualizado em 2016, na eventualidade do laudo do exame citopatológico mencionar dificuldade diagnóstica decorrente da atrofia, a estrogenização deve ser feita através da via vaginal com creme de estrogênios conjugados em baixa dose (0,5g de um aplicador, o que contém 0,3mg do princípio ativo) ou estriol vaginal (uma grama com aplicador vaginal toda noite), durante 21 dias. A nova citologia deve ser coletada entre 5 a 7 dias após o final do tratamento. Restrição deve ser feita nas mulheres portadoras de história de câncer de mama (INCA, 2016). O curso prolongado de estrogênio vaginal permite restauração adequada dos níveis locais de hormônios com melhora na espessura do epitélio escamoso que recobre o colo do útero e vagina. Assim, as alterações decorrentes do processo atrófico podem ser diferenciadas das anormalidades citológicas decorrentes de uma verdadeira lesão escamosa intraepitelial (RICHARDS; DALRYMPLE, 2015; BACKES et al., 2019).

2.3 OS FATORES DE RISCO E A INFECÇÃO PELO PAPILOMA VÍRUS HUMANO

O papel do papiloma vírus humano (HPV) na etiopatogenia do câncer do colo do útero está bem estabelecido. Sabe-se que a infecção por este vírus é necessária, porém não suficiente por si só, existindo cofatores na carcinogênese cervical (WALBOOMERS et al., 1999; CASTELLSAGUÉ, 2008; BERNARD; CHRISTOPHER, 2014; ROURA et al., 2016; ZEFERINO et al., 2018).

O tabagismo é um cofator bem estabelecido que interfere em todas as fases da carcinogênese. Contudo, o seu mecanismo de ação ainda não é bem conhecido, supondo-se que tenha efeito simultaneamente imunodepressor e tóxico (BERNARD; CHRISTOPHER, 2014). Deve-se notar que o tabagismo está fortemente associado

ao câncer de colo uterino, aumentando independentemente o risco da doença em duas a quatro vezes (WINKELSTEIN, 1990).

A utilização da contracepção hormonal combinada por via oral, principalmente se superior a 5 anos, também é considerada um fator para aumentar o risco do câncer e a suspensão do contraceptivo tem efeito benéfico. Este cofator aumenta a exposição da ZT e influencia a imunidade local (ROURA et al., 2016).

O papel da gestação na progressão das lesões parece ser mínimo. Todavia, parece existir aumento do risco com a multiparidade. As alterações hormonais e imunológicas próprias da gravidez, bem como o trauma que ocorre no colo do útero durante o parto, podem estar envolvidos no mecanismo. Os autores também sugerem que a gestação aumenta a exposição da ZT à infecção pelo HPV, entretanto mais estudos são necessários para definir essas associações (RAJKUMAR et al., 2006; ROURA et al., 2016; LOOKER et al., 2018).

As mulheres com imunossupressão iatrogênica, como consequência de doenças autoimunes ou pelo vírus da imunodeficiência humana/síndrome da imunodeficiência adquirida têm também risco aumentado para lesões pré-malignas e câncer. Estas mulheres podem albergar uma infecção latente pelo HPV que pode se tornar ativa ou, por outro lado, apresentar dificuldade para o *clearance* de uma nova infecção pelo vírus (LOOKER et al., 2018). A infecção pelo vírus da imunodeficiência humana causa imunossupressão, o que favorece a infecção persistente pelo HPV e o acúmulo de infecção por múltiplos tipos virais que não sofreram *clearance*, e o risco aumenta na proporção da diminuição dos níveis de CD4. Aparentemente a terapia antirretroviral exerce pouco efeito protetor contra a evolução das HSIL para doença invasora (LOOKER et al., 2018). O aumento da contagem de CD4 causado pela instituição da terapia antirretroviral não corresponde, na mesma proporção, ao aumento da resposta imunológica específica ao HPV. Acredita-se que um dos mecanismos seja de que as alterações celulares induzidas pelo HPV, por causarem perda do controle da divisão celular, as tornem não suscetíveis a resposta imunológica pelos antígenos do HPV (PALEFSKY; HOLLY, 2003).

A coinfeção por outros agentes sexualmente transmissíveis, como a *Chlamydia trachomatis* e o *Herpes simplex vírus 2*, aumenta o risco para o carcinoma de colo uterino, uma vez que promovem a inflamação crônica da cérvix (BERNARD; CHRISTOPHER, 2014; DE TOMASI; OPATA; 2019).

Os fatores comportamentais que influenciam o risco de infecção são aqueles que aumentam a chance de encontrar um parceiro infectado. Assim, os fatores de risco para a infecção por HPV estão relacionados com a atividade sexual, tais como a sexarca precoce, número de parceiros, parceiros sexuais recentes e relações sexuais com parceiros que tem outros parceiros, quer sejam homens ou mulheres. O estudo *The International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer* apontou que o risco de carcinoma invasor aumenta conforme o número de parceiros sexuais e a idade da sexarca (RAJKUMAR et al., 2006).

Os cofatores genéticos do hospedeiro que influenciam o controle da infecção certamente existem, mas são pouco compreendidos. A única associação consistente é com o antígeno leucocitário humano, apoiando a importância das respostas das células T no controle de infecções por HPV e pré-câncer cervical (STANLEY, 2009). Em suma, existem cofatores além da infecção por HPV com papel preponderante no aparecimento de câncer do colo do útero. O conhecimento destes cofatores permite compreender melhor a evolução da infecção viral, possibilitando vigilância mais atenta e direcionada (FREEMAN-WANG; WALKER, 2011; LOOKER et al., 2018).

2.3.1 História Natural da Infecção pelo Papiloma Vírus Humano no Câncer de Colo do Útero

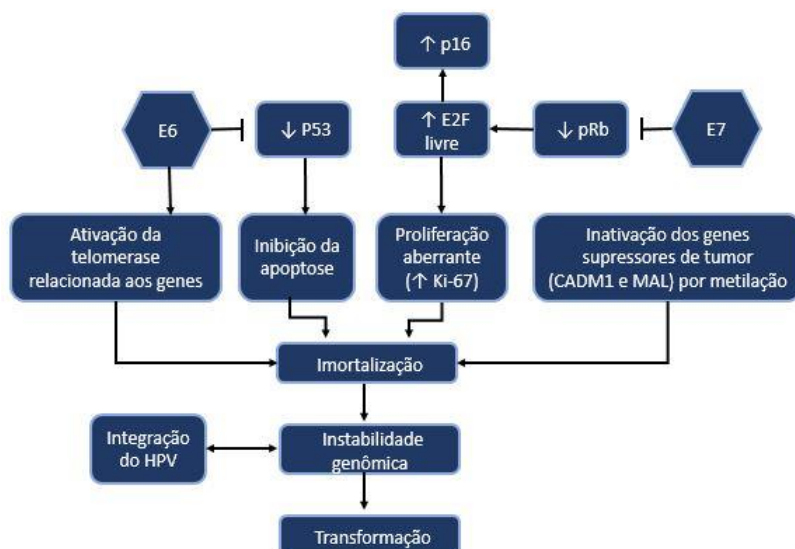
Existem mais de 150 tipos de HPV no trato genital inferior da mulher. Os HPV pertencem ao gênero *Alphapapillomavirus* e sua árvore filogenética possui mais de 100 tipos identificados, dos quais mais de 40 infectam a genitália feminina, acometendo principalmente as células da camada basal do epitélio escamoso estratificado e células metaplásicas da ZT (DE VILLIERS et al., 2004; GRAVITT; WINER, 2017).

Os HPV do tipo 16 e 18 são responsáveis por cerca 70% de todos os cânceres cervicais (MUÑOZ et al., 2003; RAJKUMAR et al., 2006). O HPV tipo 16 é o mais carcinogênico, responsável por cerca de 55% a 60% de todos os cânceres cervicais (WALBOOMERS et al., 1999; MUÑOZ et al., 2003; RAJKUMAR et al., 2006; GRAVITT; WINER, 2017). O HPV tipo 18 é o segundo mais carcinogênico e representa 10% a 15% dos cânceres do colo do útero (WALBOOMERS et al., 1999; MUÑOZ et al., 2003; RAJKUMAR et al., 2006; GRAVITT; WINER, 2017).

Durante o processo infeccioso as proteínas virais E6 e E7 inativam ou interferem nos fatores de regulação do ciclo celular do hospedeiro, incluindo pRB e p53. Com a persistência da infecção e a expressão continuada das proteínas E6 e E7, ocorre instabilidade genômica do hospedeiro e surgimento de lesões precursoras e malignas. Ainda não estão bem conhecidos todos os fatores que determinam este desfecho. A presença de HPV na forma integrada está associada à presença de HSIL (BROTHERTON; GERTIG, 2011; CROSBIE et al., 2013; WHEELER, 2013; DE VILLIERS et al., 2004; GRAVITT; WINER, 2017) (Figura 1).

Segundo o manual publicado pela Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde em 2015, atualizado em 2019, a infecção por HPV é a infecção sexualmente transmissível mais comum no mundo e o risco estimado de contágio é de 15 a 25% a cada novo parceiro sexual. A maioria das infecções são assintomáticas ou inaparentes. Outras podem apresentar-se sob a forma de lesões exofíticas, os chamados condilomas acuminados ou verrugas genitais. Pode também assumir forma subclínica, visível apenas sob técnicas de magnificação (lentes) e após aplicação de reagentes, como o ácido acético (YOUNG; COTTON; CRUICKSHANK, 2018). A transmissão do HPV é considerada, preferencialmente, sexual (CASTELLSAGUÉ, 2008).

FIGURA 1 - CICLO DE VIDA DO PAPILOMA VÍRUS HUMANO E INTEGRAÇÃO DO SEU GENOMA



FONTE: Wild et al. (2020). Licença: CC BY-NC-ND 3.0 IGO

O risco cumulativo de infecção por HPV nos primeiros três anos do início da atividade sexual é de 50%. Ao longo dos anos sua redução ocorre às expensas do

clearence espontâneo das infecções acumuladas. Infecções por múltiplos tipos de HPV (coinfecções) são comuns e ocorrem em aproximadamente 50% das vezes (CROSBIE et al., 2013; WHEELER, 2013).

Plummer et al. (2007) demonstraram, de forma consistente, que a maioria das infecções por HPV não são mais detectáveis após 1 a 2 anos da detecção inicial. De fato, a maioria das infecções são assintomáticas e tão transitórias que a maioria das pessoas não faz ideia de que está infectada (SCHLECHT, 2003; MOSCICKI et al., 2004; PLUMMER et al., 2007; CONITEC, 2015).

A persistência da infecção pelo HPV de alto risco consiste no verdadeiro risco para o surgimento da lesão precursora do carcinoma com considerável potencial de progressão, quando não tratadas, e são representadas citopatologicamente pelas HSIL e histopatologicamente por Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) 2 e 3. Os fatores que determinam a persistência da infecção e a progressão para neoplasias do sistema geniturinário incluem infecção por HPV de alto risco oncogênico (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59), estado imunológico e tabagismo (SELLORS et al., 2002; BERNARD; CHRISTOPHER, 2014; DE VILLIERS et al., 2004; GRAVITT; WINER, 2017).

2.3.2 A Infecção pelo Papiloma Vírus Humano nas Mulheres na Maturidade

O câncer de colo uterino apresenta um padrão bimodal, com dois picos de incidência. Um entre 35-45 anos e outro aos 65-80 anos. O estudo italiano realizado por Piccoli et al. (2008) encontrou o primeiro pico aos 25 anos e o segundo aos 59 anos. O primeiro pico é bem explicado pelo tempo de evolução do câncer de colo e pelo início da vida sexual e a infecção persistente do HPV oncogênico. O segundo pico tem sido mais difícil de explicar. Foi sugerido que esteja associado à mudança de parceiros sexuais na meia idade ou à reativação de uma infecção latente pelo HPV à medida que o sistema imune se degenera (GUZZETTA et al., 2014; GRAVITT; WINER, 2017; TIFAOUY et al., 2018).

A hipótese alternativa para o aumento na taxa da infecção viral na sexta década é a de que o vírus pode existir por muito tempo em uma fase de latência, na qual não pode ser detectado pelo exame de PCR, sendo que o mesmo pode ser reativado em um determinado momento, especialmente com a imunosenescência, que envolve a redução de muitos aspectos da função do sistema imunológico

(BROWN; WEAVER, 2012; GRAVITT; WINER, 2017; TIFAOUY et al., 2018). Em outros estudos, o segundo pico de incidência foi decorrente da saída das mulheres dos programas de rastreio aos 65 anos (MACGREGOR; FRASER; MANN, 1989; GUZZETTA et al., 2014).

Tendo em vista o risco aumentado de carcinoma do colo de útero nas mulheres mais velhas, várias investigações foram feitas em relação às prevalências das infecções com os tipos oncogênicos do HPV e associações com anormalidades citológicas para esclarecer o papel do deste vírus na evolução do câncer. Dois picos na prevalência de infecção por HPV carcinogênico foram identificados entre as mulheres da Costa Rica: uma entre mulheres com menos de 25 anos e outra entre mulheres com mais de 59 anos (HERRERO et al., 1997; SELLORS et al., 2002; MUÑOZ et al., 2003).

Na província de Ontário, no Canadá, foi realizada uma investigação em torno da atividade sexual nessas mulheres com mais de cinquenta anos e foi demonstrado que aquelas que não pareciam ter uma parceria sexual estável (solteiras, separadas ou divorciadas) tiveram probabilidade significativamente maior de serem positivas para o HPV carcinogênico, quando comparadas às mulheres com história de união estável. Análise de regressão logística multivariada realizada com as variáveis idade da primeira relação sexual e estado civil revelaram que tanto a idade inferior a 20 anos na primeira relação sexual quanto a ausência de uma parceria sexual estável permaneceram estatisticamente significativas. Concluiu-se que a alta prevalência do vírus entre as mulheres com 60 anos ou mais em Ontário foi consistente com o segundo pico após os 59 anos entre as mulheres da Costa Rica (HERRERO et al., 1997; SELLORS et al., 2002), apontando que, após a infecção inicial, o HPV pode tornar-se latente e, em seguida, ser reativado com a idade em algumas mulheres, quando a vigilância imunológica diminui (SELLORS et al., 2002; MUÑOZ et al., 2003; BERGENGREN et al., 2019).

Em um estudo de Gravitt e Winer (2013), com 843 mulheres entre 35 e 60 anos, divididas em 2 grupos, baseando-se em números de parceiros: pacientes com < 5 parceiros sexuais ao longo da vida (portanto, com menor risco de adquirir o HPV oncogênico) e pessoas com ≥ 5 parceiros sexuais ao longo da vida (portanto, com maior risco infecção oncogênica pelo HPV). Observou-se que a prevalência de infecção por HPV diminuiu entre as mulheres com menor número de parceiros, entretanto foi observado risco aumentado de infecção viral pelo HPV oncogênico nas

pacientes idosas com maior número de parceiros (87,2%), comparadas com mulheres jovens (28,0%). Em contraste, o risco atribuível à população associado com um novo parceiro sexual foi de 28% entre as mulheres mais jovens, em comparação com 7,7% entre as mulheres mais velhas. Então, a interação entre idade e número de parceiros sexuais na infecção oncogênica pelo HPV foi clara, bem como, em favor do risco de "reativação" do HPV. Portanto, as mulheres mais velhas do estudo, que provavelmente foram infectadas com o HPV oncogênico, tiveram declínio da infecção apenas entre aquelas com menos de 5 parceiros sexuais ao longo da vida. O risco de reativação oncogênica do HPV pode aumentar após os 50 anos e este fato contribui para uma grande fração da detecção do vírus em idades mais avançadas, em comparação com a fração resultante de novas infecções por HPV (BROWN; WEAVER, 2012; GRAVITT; WINER, 2017).

Na Suécia a triagem do câncer cervical acaba aos 60 anos. No entanto, tem havido aumento em 30% de diagnóstico do câncer de colo de útero em pacientes na sétima década de vida. Em um estudo realizado em 2018 o teste do DNA (Ácido Desoxirribonucleico) HPV foi adicionado nas pacientes que apresentavam alterações citológicas. Ficou evidenciado que, apesar da incidência do vírus ser baixa nas mulheres mais idosas, quando houve dois testes positivos para a presença do vírus, a probabilidade destas pacientes serem portadoras de uma lesão de alto grau foi grande. Este estudo mostrou que o rastreamento por citologia líquida ou colposcopia é pouco sensível nesse grupo etário, provavelmente pela inacessibilidade da ZT, e que a introdução de investigação pelo teste do HPV deve ser feita nesta faixa etária a fim de encontrar estratégias diagnósticas e opções de tratamento mais precoce (MAC BRIDE; RHODES; SHUSTER, 2010; GANDHI et al., 2016; HERMANSSON et al., 2018).

2.3.3 A NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL NO PERÍODO DO CLIMATÉRIO

As neoplasias intraepiteliais cervicais estão intimamente ligadas ao processo da carcinogênese do colo uterino, correspondendo a anormalidades do epitélio traduzidas por alterações na maturação e atipias celulares que podem estar presentes em um, dois ou nos três terços da espessura do epitélio escamoso que recobre a cérvix uterina (AIDÉ et al., 2009).

O pico de incidência desta doença encontra-se entre 25 a 30 anos de idade, apesar de a taxa de lesão de alto grau permanecer ainda desconhecida no grupo etário das mulheres em menopausa. Alguns autores relataram frequência entre 4,3% a 6,5% nas pacientes acima dos 50 anos (CHENG et al., 2013; CHEN et al., 2016).

A idade da mulher está correlacionada positivamente com a gravidade da doença, sendo que nas mulheres acima de 50 anos, 39% dos casos corresponderam a carcinoma *in situ* e doença microinvasora, comparados a taxa de 3% em meio as mulheres de 20 anos e de 13% no grupo etário dos 30 anos (CAPSIE et al., 2001).

O conceito de lesões precursoras do carcinoma cervical uterino teve início no século XIX quando algumas áreas de atipias foram reconhecidas adjacentes às lesões invasoras. Em 1932, Broders introduziu o termo carcinoma *in situ* (CIS) para definir a presença de células com vários graus de atipia que estavam confinadas a totalidade da espessura do epitélio não rompendo a membrana basal.

No final da década de 50, Reagan descreveu o termo displasia para designar alterações intermediárias entre o epitélio normal e o CIS (REAGAN, 1953).

As alterações displásicas classificavam-se em leve, moderada e grave de acordo com o grau de acometimento da espessura epitelial. Durante muitos anos as lesões pré-neoplásicas cervicais foram descritas de acordo com as categorias de displasia e CIS.

Observou-se que alguns casos de displasia regrediam, outros persistiam e alguns progrediam para o carcinoma *in situ*. Estas observações criaram o conceito de um único processo patológico contínuo através do qual o epitélio escamoso normal evolui para as lesões precursoras e, finalmente, para a neoplasia invasora. Então, na década de 60 o termo NIC foi introduzido para designar uma grande variedade de alterações celulares que estavam confinadas ao limite do epitélio, classificando-as em graus 1, 2 e 3, correspondendo a displasia leve (NIC 1), displasia moderada (NIC 2) e displasia grave (NIC3 e CIS) (RICHART, 1990).

Usando como base a classificação histológica de Richart, pensava-se que as lesões intraepiteliais cervicais faziam parte de um processo contínuo, uma NIC 1 se transformaria em NIC 2 que iria para a NIC 3 até finalmente romper a membrana basal e dar origem a doença invasora. Estudos longitudinais apontam o surgimento de lesão de alto grau sem a detecção prévia da lesão de baixo grau, enquanto outros mostram que o comportamento biológico da NIC 1 é diferente da NIC 2 e NIC 3 (OSTOR, 1993).

Vários estudos foram focados na história natural da NIC com ênfase na progressão, persistência e regressão desta patologia (MELNIKOW et al., 1998; HOLOWATY; MILLER; ROHAN, 1999), indicando que a maioria das lesões de baixo grau são de caráter transitório e regridem a normalidade. Ao contrário, as lesões de alto grau tem percentual baixo de regressão e probabilidade maior de progredir para o carcinoma invasor, sendo que o intervalo médio entre a NIC e o surgimento da doença invasora é de 10 a 15 anos (MC CREDIE et al., 2008).

O mecanismo pelo qual algumas lesões progridem, enquanto outras sofrem regressão, ainda não está bem esclarecido e estudos que utilizam marcadores tumorais podem esclarecer quais os casos que podem evoluir para formas mais graves da doença e quais as lesões que podem regredir ao longo do tempo (LEE et al., 2015).

O diagnóstico da NIC é feito através da citologia, principal método de rastreio da colposcopia, que tem por objetivo mostrar a topografia da lesão, sendo importante para a orientação da biópsia e também contribui para a definição da melhor abordagem terapêutica. A histologia é o exame padrão-ouro para o diagnóstico das neoplasias intraepiteliais cervicais.

2.4 OS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

2.4.1 O Exame Citopatológico

O rastreamento para o câncer de colo uterino é baseado no exame citológico do esfregaço cervicovaginal, também conhecido como Papanicolaou, sendo utilizado há mais de 50 anos. Nos países onde há programas de rastreio eficientes, é possível comparar as taxas de cobertura às curvas de sobrevida para o câncer cervical, o que demonstra que a identificação das lesões pré-neoplásicas e o consequente tratamento das mesmas é a principal etapa na prevenção do câncer em estágios mais agressivos (FORBES; JEPSON; MARTIN-HIRSCH, 2002; TJALMA, 2017).

Em 1928, George Papanicolaou identificou células malignas em esfregaços citológicos vaginais, mas apenas no final dos anos de 1940 esse teste passou a ser aceito e teve a sua coleta aperfeiçoada. O exame foi adotado mundialmente. É um exame citológico em que a coleta do material no colo uterino é realizada por esfregaço de células em uma lâmina. Atualmente foram acrescentados outros objetos na coleta

como a escova endocervical (MACGREGOR; FRASER; MANN, 1989; SOLOMON et al., 2002). Para a citologia convencional ou citologia em meio líquido são necessárias ao menos dez células endocervicais ou células metaplásicas escamosas, isoladas ou em agrupamentos, para que se considere presentes células da JEC na amostra (NAI et al., 2011; BERGENGREN et al., 2019).

No decorrer da história do exame citopatológico do colo uterino diferentes nomenclaturas foram adotadas para as lesões cervicais. Segundo o Ministério da Saúde (2016), nas Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento de Câncer do Colo do Útero, em 1941, o exame citopatológico era conhecido como Papanicolaou, e foi dividido em Classe I, II, III, IV e V. No ano de 1952, surgiu a nomenclatura da Organização Mundial da Saúde, subdividindo a Classe III em: displasia leve, moderada e acentuada; a Classe IV em: Carcinoma *in situ* e a Classe V em: Carcinoma invasor (INCA, 2020).

Em 1967, Richart classificou os tipos das neoplasias em: NIC I correspondente às displasias leves; NIC-2 para as displasias moderadas; NIC-3 para as displasias acentuadas e carcinomas *in situ*; e manteve carcinoma invasor para a classe de mesmo nome (INCA, 2020).

Em 1988, surgiu a classificação de Bethesda, que foi revisada em 1991 e 2001 e atualizada em 2014, a mais aceita atualmente. Foi desenvolvida para unificar e facilitar a comunicação entre os patologistas e os clínicos para o manejo adequado dessas pacientes. Classifica citologicamente as neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC) em lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (LSIL) e lesões intraepiteliais escamosos de alto grau (HSIL) (WRIGHT et al., 2007; HALFORD; WALKER; DUHIG, 2010). Este sistema também contempla os achados indeterminados que são subdivididos em células escamosas atípicas de significado indeterminado, possivelmente não neoplásica (*Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance* – ASC-US) e células escamosas atípicas onde não se pode excluir lesão de alto grau (*Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance Can Not Exclude High Grade* – ASC-H). De acordo com as alterações em células glandulares o sistema se divide em adenocarcinoma *in situ* e adenocarcinoma invasor (Quadro 1).

QUADRO 1 - NOMENCLATURAS CITOPATOLÓGICA E HISTOPATOLÓGICA

Classificação citológica de Papanicolaou (1941)	Classificação histológica da OMS (1952)	Classificação histológica de Richart (1967)	Sistema Bethesda (2001)	Classificação Citológica Brasileira (2006)
Classe I	-	-	-	-
Classe II	-	-	Alterações benignas	Alterações benignas
-	-	-	Atipias de significado indeterminado	Atipias de significado indeterminado
Classe III	Displasia leve	NIC I	LSIL	LSIL
	Displasia moderada e acentuada	NIC II e NICIII	HSIL	HSIL
Classe IV	Carcinoma <i>in situ</i>	NIC III	HSIL Adenocarcinoma <i>in situ</i> (AIS)	HSIL AIS
Classe V	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor

FONTE: INCA (2016)

A classificação de Bethesda (TBS) reconhece que a maioria das LSIL é autolimitada, enquanto a HSIL tem probabilidade maior de persistir ou progredir para o câncer invasivo (RAMA et al., 2008). Portanto, casos compatíveis com HSIL devem ser tratados adequadamente, enquanto as lesões correspondentes a LSIL podem permanecer em seguimento (SAAD et al., 2006).

A confiabilidade do exame citológico é algo a ser discutido, já que não se trata de um exame livre de falhas, desde que 30% dos diagnósticos histológicos de HSIL produzem esfregaços negativos. Apesar da alta especificidade da citologia para a detecção de HSIL ou câncer, sua sensibilidade possui valores médios de apenas 47% a 58% (RAMA et al., 2008). Amostragem inadequada e baixa qualidade da amostra são as principais causas de resultados falso-negativos na citopatologia oncológica convencional (WADDELL, 1997; RAMA et al., 2008; FREEMAN-WANG; WALKER, 2011). O resultado falso-negativo em um teste de rastreamento é mais preocupante que o falso-positivo, já que as mulheres falso-negativas podem ser perdidas e permanecer com risco de desenvolvimento de doença invasora (NAI et al., 2011; KHANGAR et al., 2018).

2.4.1.1 As alterações epiteliais cervicais no período do climatério

As células epiteliais que são encontradas no esfregaço cervical típico incluem células escamosas superficiais, células escamosas intermediárias, células escamosas parabasais, células metaplásicas escamosas e células endocervicais. As células superficiais e intermediárias são grandes, poligonais e se caracterizam por núcleo pequeno, denso, redondo e picnótico nas células superficiais e núcleo vesicular maior, redondo ou oval nas células intermediárias. O núcleo da célula superficial é menor que de um glóbulo vermelho, enquanto o núcleo celular intermediário é aproximadamente do tamanho de um pequeno linfócito maduro (um pouco maior).

O citoplasma de ambos os tipos de células varia de biofílico a eosinofílico e as células podem ficar planas ou podem ter margens citoplasmáticas dobradas. As células parabasais variam em tamanho, mas são sempre menores que as células superficiais ou intermediárias. Os seus núcleos são vesiculares e podem ter o mesmo tamanho ou um pouco maiores do que os de células intermediárias. A razão núcleo/citoplasma é, portanto, ampliada em comparação com as células superficiais ou intermediárias (TAMBOURET; WILBUR, 2003; BRIDE; RHODES; SHUSTER, 2010).

Com o início da menopausa, um padrão atrófico se desenvolve como resultado de níveis extremamente baixos de estrogênio, mais comuns no fim da vida. Pode estar associado ao predomínio de células parabasais, incluindo um fundo marcadamente inflamatório, "sujo" e degenerativo. Uma descoberta ocasionalmente identificada em citologia é a metaplasia de células de transição, que é reconhecido por grupos de várias camadas de células parabasais coesivas com núcleos ranhurados, com extremidades afiladas, contornos enrugados e halos perinucleares (TAMBOURET, WILBUR, 2003; NAYAR; WILBUR, 2015; TABRIZI, 2018; KHALIFA et al., 2018). O hipoestrogenismo resulta em um epitélio escamoso atrófico que é suscetível a trauma e infecção. A célula parabasal predomina e nas preparações de esfregaço está presente isoladamente ou em grupos. Outras alterações incluem células com paraqueratose (persistência do núcleo na camada córnea ou alongadas com núcleo picnótico), histiócitos e glóbulos vermelhos, e no caso da vaginite atrófica, exsudado composto de células inflamatórias agudas e crônicas e detritos celulares. (TAMBOURET, WILBUR 2003; KHALIFA et al., 2018). O índice de maturação vaginal representa a relação entre a porcentagem de células parabasais, intermediárias e

superficiais em um raspado vaginal, a fim de definir o grau de ação hormonal sobre a mulher. É frequentemente utilizado para avaliar o efeito de terapias hormonais na vaginite atrófica. Um valor mais baixo indica menos células superficiais, o que é interpretado como níveis de estrogênio ausentes ou muito baixos (WEBER; LIMPENS; ROOVERS, 2015).

As anormalidades celulares no esfregaço pós-menopausa em decorrência do déficit de estrogênio podem levar a resultados falso positivos de ASC-US, ASC-H, células glandulares atípicas (AGC), LSIL, HSIL ou mesmo carcinoma. A probabilidade aumenta quando o esfregaço é comprometido por alterações inflamatórias e degenerativas. A ampliação do núcleo parabasal é uma manifestação benigna comum de deficiência de estrogênio, mas que pode levar a interpretação equivocada de um câncer. No achado citológico de ASC-US existe uma diferença do tamanho nuclear entre a mulher na pré-menopausa (tamanho nuclear 2 a 3 vezes a de um núcleo celular intermediário) e a que se encontra na pós-menopausa (quando o tamanho do núcleo da célula parabasal em comparação com um núcleo da célula intermediária celular é de 3 a 4 vezes maior), podendo levar a um falso diagnóstico de malignidade (ANSARI et al., 2012).

Assim, conclui-se que a citologia do epitélio cervical atrófico é formada predominantemente por células basais e parabasais e por outros achados atípicos como halo perinuclear, hiper cromasia e multinucleação. Estes achados podem mimetizar as alterações causadas pelo HPV ou ainda as HSIL (TAY; SINGER, 2006). Torna-se importante a atenção para o padrão de cromatina, presença de mitoses e contorno da membrana nuclear para melhor diferenciar o esfregaço atrófico do alterado por neoplasia (TABRIZI, 2018). O epitélio atrófico cervical é fino e propenso a infecções. Os exames citológicos são persistentemente inflamatórios em 43% dessas mulheres. Quando associada à vaginite, a identificação das alterações no epitélio atrófico apresenta dificuldades diagnósticas, já que as células parabasais podem degenerar, resultando em um padrão de autólise, lembrando células tumorais. O material granular no fundo da lâmina resultante dessa degeneração pode também causar confusão com a diátese tumoral (BACKES et al., 2019). Dificuldade em distinguir alterações epiteliais atróficas das lesões de alto grau tem sido proposta como explicação para os altos índices de falso-positivos no esfregaço de alto grau (AUE-AUNGKUL et al., 2011; BERGENGREN et al., 2019). Nas lesões de alto grau o

fundo do esfregaço está limpo e os núcleos da célula exibem padrões irregulares de cromatina acompanhados de irregularidades da membrana nuclear (TABRIZI, 2018).

Vários estudos examinaram o diagnóstico ASC-US em mulheres idosas. Esta categoria citológica está associada as lesões displásicas em frequência menor que a observada nas mulheres menores que 40 anos (FLYNN; RIMM, 2001). Este achado pode ser explicado pela baixa especificidade dos critérios que caracterizam o diagnóstico de ASC-US (ABATI; JAFFURS; WILDER, 1998). A frequência de uma lesão pré-cancerosa em uma população portadora deste diagnóstico indefinido foi de 10 a 20% (RADER et al., 1999). O fato de o ASC-US parecer ter valor preditivo diferente na população idosa aumenta a possibilidade de ser manejado de uma forma diferente (RADER et al., 1999; FLYNN; RIMM, 2001; MUECK et al., 2018). Outra categoria citológica que gera dúvidas nas mulheres na pós-menopausa é a de ASC-H, que é definida pela presença de atipias celulares escamosas acentuadas, mas que não preenchem todos os critérios para o diagnóstico de uma lesão de alto grau (SOLOMON et al., 2002; MASSAD et al., 2013). O diagnóstico desta alteração deve ser cauteloso e a reprodutibilidade inter e intra observador é baixa. O resultado falso-positivo é comum nas mulheres mais velhas em relação às mais jovens (RATREE et al., 2019).

2.4.2 A Colposcopia

A colposcopia é um método utilizado para a localização da topografia da lesão e desta maneira orientar os procedimentos da biópsia e tratamento. O colposcópio surgiu em meados de 1920, foi uma invenção do ginecologista Hans Hinselmann, quando trabalhava na clínica de ginecologia da Universidade de Bonn, na Alemanha (TEIXEIRA; LANA, 2015).

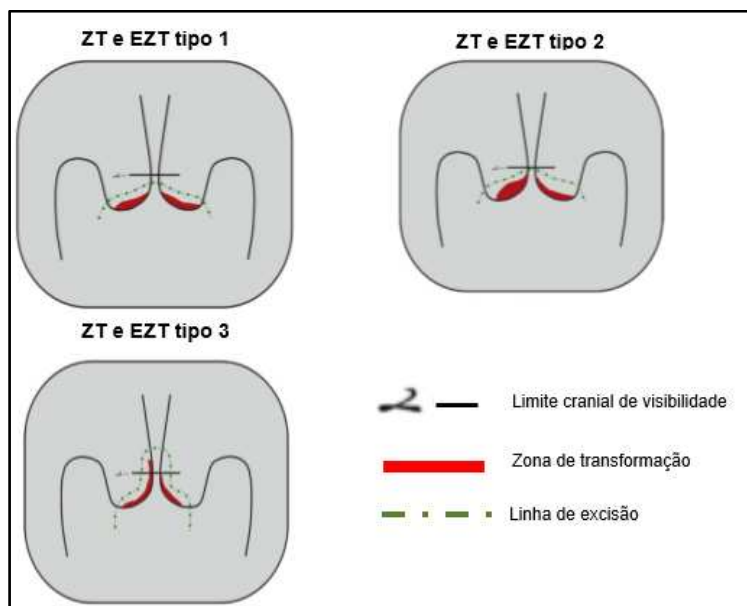
Foi introduzido no Brasil por Arnaldo de Moraes nos anos de 1930 e afirmou-se como técnica de detecção nos anos de 1940, por meio do trabalho do médico João Paulo Rieper, discípulo de Hinselmann, com o qual fizera um curso na cidade alemã de Hamburgo. O exame consiste na visualização do colo uterino através de um colposcópio, tendo como foco principal a localização da JEC e, em consequência, a delimitação da ZT com o objetivo final de detecção de anormalidades no local (TEIXEIRA; LÖWY, 2011; TEIXEIRA; LANA, 2015).

A associação entre os diferentes tipos de exames, colposcopia e citologia oncológica fizeram com que as lesões precursoras tivessem sucesso em seu seguimento e tratamento. A avaliação colposcópica é a chave para diagnosticar as pacientes com maior risco de progressão para doença invasora e determinar, assim, a melhor conduta para as mulheres cujo exame de rastreio foi positivo. Além disso, a colposcopia, quando adequadamente realizada, é capaz de reduzir os riscos de tratamento inadequado (TATTI; BORNSTEIN; PRENDIVILLE, 2013).

A ZT é definida como a região de epitélio escamoso com elementos glandulares (orifícios ou cistos), resultantes de processo fisiológico de substituição do epitélio glandular evertido por epitélio escamoso, denominado metaplasia escamosa. Anatomicamente a ZT está localizada entre a JEC e o último cisto de Naboth ou orifício glandular aberto (CONITEC, 2015). É justamente na ZT, porém não exclusivamente nela, que as principais lesões causadas pelo HPV surgem, e por este motivo, a visualização da JEC é tida como um critério de qualidade do exame colposcópico (SANKARANARAYANAN; SELLORS, 2003; REICH et al., 2017).

A ZT é dividida em tipos 1, 2 e 3 conforme a visualização da JEC. O tipo 1 é definido quando a mesma se encontra totalmente ectocervical, o tipo 2 quando possui componente endocervical, no entanto é completamente visível, e no tipo 3 não é visualizada. O tipo de ZT direciona o tipo de tratamento a ser realizado na vigência de uma lesão (TATTI; BORNSTEIN; PRENDIVILLE, 2013) (Figura 2).

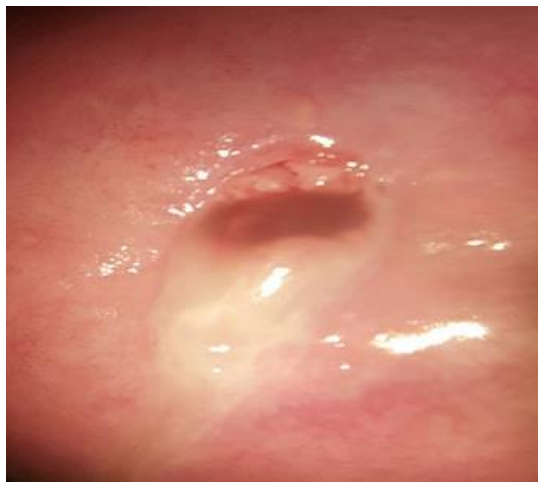
FIGURA 2 -TIPOS DE ZONA DE TRANSFORMAÇÃO
E DE EXCISÃO DA ZONA DE TRANSFORMAÇÃO



FONTE: Adaptado de Tatti et al. (2013).

A aparência colposcópica do epitélio normal é relativamente translúcida e permite que a luz incidente se reflita no estroma subjacente, desse modo, exibe coloração rósea por conta da rica vascularização do colo. Quando o ácido acético é aplicado em um epitélio normal, sua penetração pelas células esparsamente nucleadas da superfície leva a pouca precipitação. E apesar das células basais e parabasais conterem mais proteína nuclear, isso não é suficiente para obscurecer o estroma subjacente e sua rede de vasos sanguíneos. Assim, o epitélio escamoso normal mantém sua coloração rósea, mesmo após aplicação de ácido acético (SANKARANARAYANAN; SELLORS, 2003; TATTI; BORNSTEIN; PRENDIVILLE, 2013) (Figura 3).

FIGURA 3 - COLO UTERINO NORMAL AO COLPOSCÓPIO



FONTE: Zanine (2020) (arquivo pessoal)

NOTA: Colo uterino normal – JEC 0

Com o crescente uso e globalização da colposcopia fez-se necessário a criação de uma nomenclatura internacional. Com o intuito de suprir a essa demanda, em 1975, no 2º Congresso Mundial de Patologia Cervical e Colposcopia, em Graz, na Áustria, a Federação Internacional de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia aprovou a primeira terminologia internacional, que foi baseada na nomenclatura alemã (NAUD et al., 2006).

Desde então o comitê de nomenclatura da Federação realiza atualizações periódicas, sendo que a nomenclatura colposcópica vigente foi aceita no Congresso Mundial do Rio de Janeiro, em 2011 (BORNSTEIN et al., 2011).

Nesta classificação, as lesões colposcópicas são avaliadas quanto a princípios gerais, quais sejam, sua localização em relação a ZT e seu tamanho. Além disso, as lesões são classificadas quanto ao grau de alteração de seus achados, sendo subdivididas em grau 1 (ou achados menores), quando se apresentam com acetobranqueamento tênue, margens geográficas, pontilhado ou mosaico fino, e em grau 2 (ou achados maiores), quando se apresentam com acetobranqueamento denso de aparecimento rápido, margens bem demarcadas, relevo, margem interna orifícios glandulares espessados, pontilhado e mosaico grosseiros. Além desses, há ainda os achados suspeitos para invasão que são vasos atípicos ou sinais adicionais tais como vasos frágeis, superfície irregular, lesão exofítica, necrose, ulceração e neoplasia tumoral/grosseira. E, por fim, existem achados denominados inespecíficos que incluem as leucoplasia e erosões, e na classe miscelânea encontram-se os

condilomas, pólipos, inflamação congênita da ZT, estenose, anomalia congênita, alterações epiteliais pós-tratamento e endometriose (Quadro 2) (BOWRING et al., 2010; BORNSTEIN et al., 2011).

QUADRO 2 - TERMINOLOGIA COLPOSCÓPICA DO COLO UTERINO

<i>Colposcopia adequada ou inadequada (especificar o motivo sangramento, inflamação, cicatriz, etc.)</i>	
Avaliação Geral	Visibilidade da junção escamo-colunar: completamente visível, parcialmente visível e não visível
	Zona de transformação Tipo 1, 2 ou 3
	Epitélio escamoso Original: Maduro, Atrófico
Achados colposcópicos normais	Epitélio Colunar: Ectopia
	Epitélio Escamoso Metaplásico: Cistos de Naboth, orifícios (glândulas) abertos
	Deciduose na Gravidez
Achados colposcópicos anormais	Localização da lesão: Dentro ou fora da ZT e de acordo com a posição do relógio.
	Princípios Gerais Tamanho da lesão: Número de quadrantes do colo uterino envolvidos pela lesão e tamanho da lesão em porcentagem do colo uterino
	Grau 1 (Menor) Epitélio acetobranco tênue, de borda irregular ou geográfica Mosaico fino, pontilhado fino
	Grau 2 (Maior) Epitélio acetobranco denso, Acetobranqueamento de aparecimento rápido, orifícios glandulares espessados Mosaico grosseiro, pontilhado grosseiro Margem demarcada, Sinal da margem interna Sinal da crista (sobrelevado)
	Não específico Leucoplasia (queratose, hiperqueratose), erosão, captação da solução de Lugol: positiva (corado) ou negativa (não corado) (teste de Schiller negativo ou positivo)
Suspeita de Invasão	Vasos atípicos Sinais adicionais vasos frágeis, superfície irregular, lesão exofítica, necrose, ulceração (necrótica), neoplasia tumoral/grosseira.
Miscelânea	Zona de transformação congênita, condiloma, pólipos (ectocervical/endocervical), inflamação, estenose, anomalia congênita, sequela pós-tratamento, endometriose.

FONTE: IFCPC (2011)

2.4.2.1 A interferência do climatério na acurácia da colposcopia

De acordo com a literatura a acurácia da colposcopia encontra-se entre 30 a 93% (MITCHELL et al., 1996). Esta grande variabilidade no desempenho do exame colposcópico parece ser influenciada por características relacionadas a lesão, às características sociodemográficas da população de estudo, bem como a fatores externos como a experiência do examinador e adoção de índices colposcópicos. A grande variabilidade de desempenho pode estar relacionada ainda ao método aplicado na seleção da população de estudo e na verificação dos achados obtidos.

Dentre as características relacionadas a paciente, a atrofia genital compromete potencialmente a colposcopia por várias vias. Primeiramente, conforme o exposto, aumenta a referência a colposcopia de pacientes sem lesão, fenômeno este secundário aos resultados falso-positivos da citologia ocasionados por mimetismos entre os aspectos citomorfológicos da atrofia genital e as lesões intraepiteliais (PICCOLI et al., 2008; TABRIZI, 2018).

Na fase inicial do período da menopausa o epitélio escamoso perde sua umidade usual e aparência brilhante. Há uma visualização proeminente do padrão reticular fino dos capilares epitelial e subepitelial. As células colunares endocervicais diminuem de tamanho e há perda da superfície globular da endocervice levando a visualização dos vasos ao longo do epitélio. Essa aparência translúcida, com os vasos assim aparentes, pode ser tão proeminente que leva ao falso diagnóstico de alterações compatíveis com malignidade (WANG; WALKER, 2011).

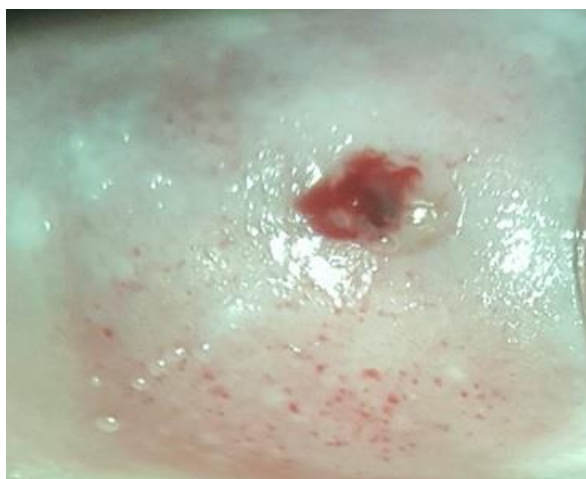
Outro aspecto relacionado a atrofia genital, que interfere no exame, remete ao comportamento do acetobranqueamento em um epitélio atrófico. Sabe-se que, histologicamente, a atrofia genital leva a menor espessura do epitélio juntamente com menor densidade nuclear, além de menor quantidade de glicogênio celular. Assim sendo, na presença de atrofia supõe-se que, mesmo na presença de alterações displásicas que acometam toda a espessura epitelial, estas podem não sofrer acetobranqueamento evidente durante o exame colposcópico, comprometendo assim sua sensibilidade. Esta hipótese foi confirmada por Yang et al. (2019), quando se evidenciou que a sensibilidade da colposcopia aumentava de 31,3% para 99,4% quando a espessura do epitélio era maior que 441µM.

A atrofia genital das mulheres na pós menopausa leva a JEC a localizar-se em posição mais cranial, dentro do canal endocervical, onde geralmente não é

acessível para visualização colposcópica. A estrogenerioterapia vaginal é apontada como capaz de melhorar as taxas de visualização da JEC, bem como minimizar a frequência de mimetismos e falso-positivos da citologia (RICHARDS; DALRYMPLE, 2015; PICCOLI et al., 2008). O tamanho da ZT não muda significativamente com o advento da menopausa, mas o epitélio escamoso metaplásico que existe em consequência da ZT madura é, muitas vezes, difícil de diferenciar do epitélio escamoso original. E como a JEC está mais cranial fica difícil de se evidenciar. Na pós menopausa tardia o epitélio cervical assume opacidade uniforme e a rede vascular não está visível. A falta de glicogênio citoplasmático nas células escamosas leva o epitélio a corar em amarelo no teste de Schiller (BORNSTEIN et al., 2012; REICH et al., 2017).

À medida que os anos após a menopausa progridem, o processo de atrofia continua em diferentes graus ao longo do epitélio, com áreas de epitélio pálido entremeado por ilhas de tecido róseo, dando ao colo uma aparência de morango. As alterações atróficas no epitélio cervical representam um desafio aos colposcopistas na avaliação da gravidade das alterações celulares que estão associadas às mudanças epiteliais. Em um estudo de Moore et al. (2008), ao investigar lesões epiteliais cervicais em mulheres acima de 35 anos, a proporção de pacientes com colposcopia insatisfatória no grupo pós-menopausa foi significativamente maior do que no grupo pré-menopausa ($p < 0,001$). Constataram, ainda, que 30% de todas as pacientes com mais de 50 anos apresentavam colposcopia insatisfatória e cerca de 50% delas apresentaram discrepância entre a citologia e a colposcopia, necessitando de procedimentos excisionais para comprovação diagnóstica (Figura 4).

FIGURA 4 - COLO UTERINO ATRÓFICO



FONTE: Zanine (2020) (arquivo pessoal)

2.4.3 O Exame Histopatológico

A histologia é considerada o exame padrão-ouro para o diagnóstico do câncer cervical, sendo realizada através de biópsia direta da lesão, sob visão colposcópica. Em casos nos quais a invasão de células cancerosas não é diagnosticada pela associação colposcópica e biópsia dirigida e, ainda, há suspeita de lesão maligna, indica-se a conização diagnóstica, podendo esta ser terapêutica em alguns casos. Em casos avançados com lesão bem estabelecida, visível a olho nu e com provável caráter invasor, não está indicada a conização, bastando a biópsia da lesão para o diagnóstico (SCHIFFMAN et al., 2007).

Há de se considerar, ainda, que o laudo histopatológico não é um resultado livre de falhas, e que, por vezes, uma aparente pobre acurácia da colposcopia pode ser em verdade decorrente de um resultado falso-negativo de biópsias, possivelmente relacionada a erros de amostragem e interpretação (SOUSA; RIBEIRO, 2009).

Com o intuito de melhorar a acurácia dos achados colposcópicos, alguns autores advogam a realização de biópsias adicionais. Em seu estudo, Pretorius; Zhang; Belinson (2004) propuseram que se realizassem biópsias aleatórias em áreas aparentemente normais à colposcopia e, com isso, demonstraram que a capacidade do exame colposcópico em detectar lesões NIC 2 ou mais melhorou de 57,1% para 94,5%. A correlação entre a colposcopia e a biópsia melhora quando duas ou mais amostras são feitas (GAGE et al., 2006).

A interpretação de uma lâmina histopatológica possui inerente variabilidade inter e intraobservador. O *New Technologies for Cervical Câncer Screening* foi um

grande estudo multicêntrico controlado e randomizado com aproximadamente 95.000 mulheres recrutadas de seis regiões distintas da Itália, desenhado para avaliar a eficácia do uso de novas tecnologias no rastreamento do câncer de colo uterino. Nele foi comparado uso do teste HPV isolado e associado a citologia oncológica como rastreamento primário. Neste estudo as pacientes com citologia alterada foram referenciadas para colposcopia, na qual todos os achados foram biopsiados. As lâminas histopatológicas dessas biópsias passaram por revisão cegada. Inicialmente 812 lesões foram diagnosticadas como LSIL e 362 lesões como HSIL. Após a revisão, 15% das lâminas inicialmente diagnosticadas como HSIL foram reclassificadas como LSIL ou menos (PALMA et al., 2008).

Sob esse raciocínio, quando não há concordância entre a impressão colposcópica e o laudo histopatológico do cone, não necessariamente trata-se de uma falha da colposcopia, já que, em parte, isso pode ser decorrente de falha de amostragem da biópsia, podendo estar correlacionado ao número de cortes realizados na peça, bem como relacionado a variabilidade inter e intraobservador da análise dos achados histopatológicos. O diagnóstico histopatológico de HSIL por biópsia indica a necessidade de tratamento excisional. O exame histológico do cone, ao revelar lesão de menor gravidade do que a biópsia, não significa resultado falso-positivo da mesma, mas a possibilidade já demonstrada da erradicação da lesão mais grave naquele procedimento. No entanto, uma biópsia menos grave que o cone, representa resultado falso-negativo da biópsia.

O critério para o diagnóstico de carcinoma escamo-colunar microinvasivo está baseado na profundidade da invasão do estroma e atribui-se um limite superior que é de 3 a 5mm (RAJKUMAR et al., 2006; WILD et al., 2020).

2.4.4 A Biologia Molecular

Os avanços na área dos exames moleculares tornaram os testes para a detecção do DNA do HPV amplamente disponíveis, principalmente nos países desenvolvidos. Atualmente, o teste para tipos de HPV de alto risco está sendo usado para o rastreamento primário do câncer de colo, para triagem de mulheres com células escamosas atípicas de significado indeterminado e resultados de citologia LSIL, bem como para co-teste com citologia e como teste de cura após procedimentos cirúrgicos

terapêuticos. O alto valor preditivo negativo do teste de DNA do HPV permitiu que os intervalos de triagem fossem aumentados com segurança (WILD et al., 2020).

Em 2018, um grupo de revisores normatizou, no Brasil, o uso do teste de DNA HPV no rastreamento do câncer de colo uterino, no seguimento de mulheres com atipias citológicas ou pós-tratamento de NIC. Este exame pode ser usado no seguimento pós-tratamento de lesões HSIL, como também na determinação do risco da presença de uma lesão de alto grau nas mulheres portadoras de alterações citológicas correspondentes a ASC-US ou ASC-H (ZEFERINO et al., 2018).

Em relação às pacientes menopausadas, o teste HPV-DNA também pode ser utilizado nas pacientes portadoras de citologia ASC-H que apresentam ZT de tipo III, achado comum nessas mulheres, e com exame colposcópico sem alterações, evitando desta maneira o uso de estrogênio tópico. Se não for detectado a presença de HPV oncogênico, pode-se retornar à triagem trienal de citologia. Se houver achados anormais, deve-se continuar a investigação do canal endocervical como recomendado pelas Diretrizes Brasileiras de Câncer Cervical (INC, 2016), preferencialmente com preparação do colo com estrogênio. Se a presença de um precursor ou lesão invasora não for comprovada, o teste do DNA HPV também pode ser usado no seguimento. Nesse caso, deve ser realizado dentro de 6 meses do teste citológico inicial. Se não há HPV oncogênico, pode-se voltar a triagem trienal. Se o HPV oncogênico estiver presente, a paciente deve ser encaminhada para colposcopia para garantir que não haja lesões precursoras (ZEFERINO et al., 2018).

Os métodos moleculares utilizados para a detecção de HPV podem ser de 2 tipos: baseados na hibridização direta do DNA ou RNA viral ou na amplificação *in vitro* destes genomas seguida por sua identificação tipo-específica (ROSENBLATT, 2005).

A captura híbrida, aprovada e reconhecida pelo Ministério da Saúde no Brasil e pelo FDA nos Estados Unidos da América, é um método baseado na hibridização, em solução de sondas sintéticas de RNA complementares às sequências genômicas de vários tipos HPV (LÖRINCZ, 1996; SELLORS et al., 2002). O advento da reação em cadeia da polimerase levou a uma verdadeira revolução na biologia molecular. Tem mostrado alta sensibilidade na identificação do DNA viral existente, imprescindível para determinar o tipo de vírus de alto risco nos tecidos com lesões pré-câncer (CHOW et al., 2000; ROSENBLATT et al., 2005).

Outros testes que necessitam menção são os de detecção de RNAm E6E7, pois são biomarcadores potentes para diagnosticar as lesões pré-cancerosas e,

associados com citologia e colposcopia, são úteis para avaliar o risco de progressão para carcinoma (CASTLE et al., 2007). Os biomarcadores estão sendo extensivamente avaliados quanto à incorporação nos programas de rastreamento do câncer do colo do útero. A infecção persistente pelo HPV de alto risco resulta na superexpressão dos oncogenes virais E6 e E7, o que leva à proliferação celular, imortalização e transformação. São testes de amplificação baseados em sequências de ácidos nucleicos projetados para detectar RNA mensageiro (RNAm) do HPV E6/E7 dos cinco tipos mais comuns de HPV de alto risco oncogênico (16, 18, 31, 33 e 45). Em mulheres com citologia negativa e positivas para o teste do DNA HPV de alto risco, um resultado positivo no teste de RNAm implica em risco aumentado de lesões com potencial para progressão. Os testes de RNAm mostraram maior especificidade que os testes de DNA na detecção de lesões cervicais de alto grau (BERNARD; CHRISTOPHER, 2014). O teste para o RNAm E6/E7 de tipos de HPV de alto risco também foi considerado útil como teste de cura (WILD et al., 2020).

A coloração dupla com p16INK4a e Ki-67 demonstrou alta sensibilidade na detecção de lesões intraepiteliais escamosas de alto grau em amostras citológicas e histológicas. Clinicamente pode ser usado para diferenciar lesões cervicais reativas e displásicas e para detectar lesões intraepiteliais escamosas de alto grau com maior precisão (BERNARD; CHRISTOPHER, 2014; TABRIZI, 2018). O Ki-67 é um marcador de proliferação que pode ser utilizado devido a diferenças no índice de proliferação entre atipia atrófica e displasia de alto grau (BERGENGREN et al., 2019).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Foi realizado um estudo observacional, analítico, longitudinal, com coleta retrospectiva de dados, por meio da consulta de um banco de dados eletrônico e avaliação manual de prontuários de mulheres com 50 anos ou mais atendidas no Setor de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia do Complexo Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Paraná (CHC/UFPR), com citologia inicial alterada, entre janeiro de 2010 e fevereiro de 2019. O Setor de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia do CHC/UFPR, faz parte de uma instituição de ensino pertencente à rede pública de saúde e possui este serviço especializado, oferecendo atendimento ambulatorial e cirúrgico e o presente local aceitou a pesquisa.

As mulheres com citologia alterada e exame colposcópico negativo e com sinais clínicos de hipoestrogenismo, receberam uma suplementação com creme de estrogênio conjugado 0,625mg/grama em 0,5g de aplicador, durante 21 dias com uma pausa de 7 dias durante 3 meses consecutivos. No final do tratamento estas pacientes repetiram a coleta da citologia e realizaram um novo exame colposcópico. Foi feita a coleta de dados de forma retrospectiva, coletado e anotado a posição da JEC e da ZT, bem como a presença dos achados colposcópicos menores e maiores. No caso da colposcopia ser positiva e demonstrar achados maiores foi realizada biópsia e a paciente foi manejada de acordo com o protocolo das diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer de colo uterino do Ministério da Saúde. Nas pacientes com resultado do exame colposcópico negativo foi orientado seguimento citológico e colposcópico em 12 meses. Elas permaneceram em uso do estrogênio conjugado creme vaginal durante os 12 meses. Foram registrados a evolução dos casos em um banco de dados e no prontuário da paciente.

3.2 HIPÓTESE DE ESTUDO

O uso do estrogênio tópico afeta a topografia da zona de transformação no exame colposcópico e facilita a diferenciação entre as alterações citológicas secundárias a atrofia das verdadeiras lesões intraepiteliais neoplásicas.

3.3 LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO

O estudo foi conduzido no Programa de Pós-graduação em Tocoginecologia e Saúde da Mulher da Universidade Federal do Paraná no período de março de 2018 a novembro de 2020. A coleta de dados se referiu ao período de janeiro de 2010 a fevereiro de 2019.

3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram consideradas pacientes elegíveis aquelas com cinquenta anos ou mais, e que se encontravam com diagnóstico clínico de amenorréia há 1 ano; com alteração citológica compatível com células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US), células escamosas atípicas de significado indeterminado que não podem excluir lesão de alto grau (ASC-H), lesão intraepitelial de baixo grau (LSIL), lesão intraepitelial de alto grau (HSIL, CIS) e AGC. Todas apresentavam colposcopia inicial negativa.

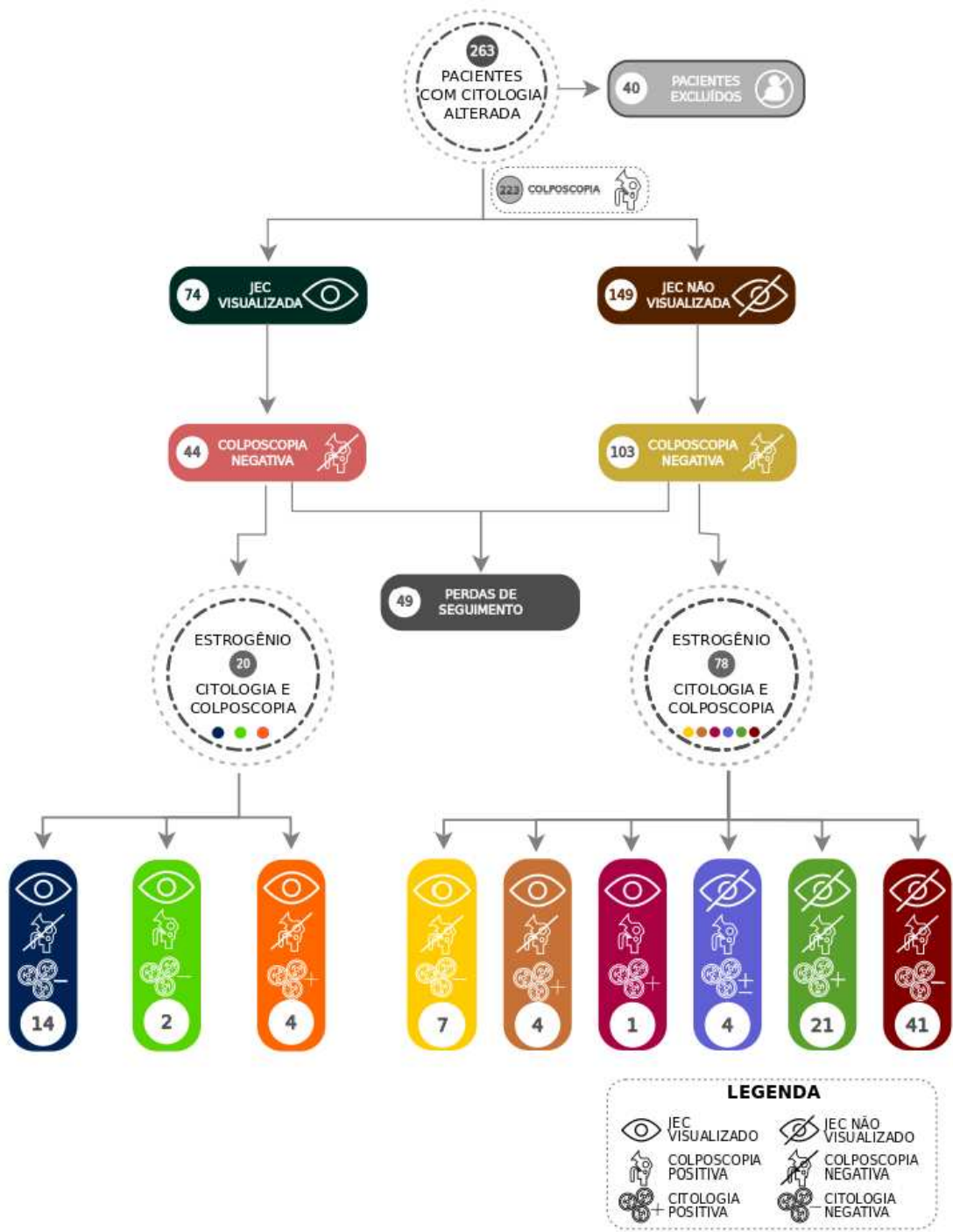
3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídas do estudo as pacientes com câncer cervical invasivo, hysterectomizadas, doenças do endométrio, aquelas com dados incompletos e estados hipoestrogênicos que não fizeram a terapia estrogênica vaginal, bem como as com colposcopias positivas iniciais.

3.6 AMOSTRA E TÉCNICA DE AMOSTRAGEM

A amostragem foi realizada por conveniência, obtida por meio de um banco de dados do serviço de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia (Figura 5).

FIGURA 5 - FLUXOGRAMA DE PACIENTES



3.7 VARIÁVEIS DE ESTUDO

Dos casos selecionados foram coletados através do arquivo do banco de dados e confirmado pela revisão manual de prontuários no Serviço de Arquivo Hospitalar os dados: idade, *status* menopausal, tabagismo, história de Infecções sexualmente transmissíveis e número de parceiros sexuais.

Foram coletados os achados colposcópicos com os seguintes dados: tipo de zona de transformação, acetobranqueamento, pontilhado, mosaico, bordos, relevo, vasos, tamanho (em número de quadrantes) e resultado do teste de Schiller. A impressão colposcópica foi dividida em negativa, menor e maior.

Também coletado os resultados de exames citológicos que poderiam estar negativos, com LSIL, HSIL, CIS, AGC, ASC-US ou ASC-H, bem como os histopatológicos daquelas que foram submetidas a procedimentos, e o seguimento foi feito de maneira semestral.

3.8 PROCEDIMENTOS DE ESTUDO

3.8.1 Citologia

A citologia cérvico-vaginal das pacientes encaminhadas aos ambulatórios de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia do CHC-UFPR foi coletada por um médico residente sob supervisão do seu preceptor. A indicação e a periodicidade dessas coletas foram realizadas em conformidade com as Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer de Colo do Útero.

A amostra foi obtida utilizando-se a espátula de Ayre para a amostragem de material da ectocérvice e a escova de Campos-da-Paz para a endocérvice. O material foi espalhado uniformemente sobre uma lâmina própria para microscopia, sendo que por convenção do próprio hospital, uma única lâmina conteve as duas áreas amostradas. Para preservar a arquitetura das amostras, o esfregaço foi imediatamente fixado por imersão em álcool 70%. O material, corretamente identificado, foi corado pelo método de Papanicolaou, que consta do uso sequencial de três corantes: Hematoxilina, Orange-G e EA-36 e em seguida o mesmo foi analisado pelo Serviço de Anatomia Patológica do CHC-UFPR e o resultado reportado segundo o Sistema Bethesda.

3.8.2 Colposcopia

Os exames foram realizados em conformidade com as normas do serviço, que determinam que as pacientes adotem a posição de litotomia modificada, com os pés devidamente apoiados, em seguida, o espéculo é escolhido conforme a anatomia da paciente a fim de se obter uma completa visualização do colo da forma mais confortável possível. Em seguida o aparelho colposcópico do fabricante DF Vasconcelos Ltda® foi posicionado na distância focal de 300mm com ajuste da distância interpupilar e de foco fino conforme a necessidade do examinador. Os dois colposcópios utilizados no hospital são provenientes da DF Vasconcellos Ltda®, de características e qualidades semelhantes.

Em seguida são identificados os limites da zona de transformação (ZT) e o ácido acético a 5% é aplicado diretamente no colo ou embebido em um algodão com o objetivo de cobrir toda a superfície cervical. Após aplicação do ácido acético uma nova inspeção da ZT é feita com a finalidade de avaliar o efeito de acetobranqueamento que ocorre gradualmente durante 60 segundos e pode desaparecer após esse período, nos casos em que isso ocorre, o ácido acético deve ser reaplicado. Uma vez avaliada a ZT segue à inspeção das paredes vaginais igualmente a procura de lesões acetobranças. O filtro verde é utilizado quando se deseja melhor avaliação dos padrões vasculares no colo. Na sequência a solução de Lugol é aplicada igualmente de forma a cobrir toda a superfície do colo e das paredes vaginais (teste de Schiller) e a interpretação de seus achados ocorre de forma integrada e complementar aos achados obtidos pelo ácido acético. A interpretação desses achados foi feita através da classificação seguindo nomenclatura da Federação Internacional de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia estabelecida no Congresso Mundial do Rio de Janeiro em 5 de julho de 2011. Todos os procedimentos foram realizados por médicos residentes e especializando do serviço, sempre supervisionados pela mesma médica especialista em patologia do trato genital inferior, com 40 anos de experiência. Estes achados foram, então, devidamente representados em prontuário médico de forma iconográfica.

A colposcopia foi classificada em: “grupo normal” ou achados negativos; “grupo baixo grau/achados menores” (epitélio do tipo papilar, epitélio aceto branco tênue, mosaico ou pontilhado finos); “grupo alto grau/achados maiores” (epitélio aceto branco denso, mosaico e pontilhado grosseiros ou orifício glandular cornificado).

A ZT foi classificada em ZT 1, ZT 2 e ZT 3 de acordo com a sua topografia, obedecendo os critérios descritos na classificação da *International Federation of Cervical Pathology and Colposcopy* (2011).

3.8.3 Histopatologia

Nos casos em que o exame colposcópico foi positivo para os achados maiores, foi realizada a biópsia colpodirigida com a pinça de Gaylor-Medina mirando a área de maior atipia. As peças de biópsia foram fixadas em solução de formol a 10% e encaminhadas para análise no serviço de Anatomia Patológica do CHC/UFPR.

Quando o resultado da biópsia foi positivo para lesão escamosa intraepitelial de alto grau, as pacientes foram submetidas ao tratamento cirúrgico excisional preconizado no serviço pela técnica clássica da conização com o bisturi de lâmina fria. As peças receberam marcação as 12 horas e foram encaminhadas para o serviço de Anatomia Patológica imersas em solução de formol a 10%. Foi utilizada a classificação de Richart para a análise histopatológica, ou seja, as lesões foram classificadas em NIC I, NICII, NICIII.

3.8.4 Revisão dos prontuários

Dos casos selecionados foram coletados pela revisão manual de prontuários no Serviço de Arquivo Hospitalar os dados: idade, *status* menopausal e período de amenorréia, sexarca, tabagismo, história de Infecções sexualmente transmissíveis, número de parceiros sexuais e quantidade de filhos e de gestações . Os dados foram armazenados em planilha eletrônica *Microsoft Excel* (2016).

Foram coletados também os achados colposcópicos apenas das pacientes submetidas à estrogenização por 3 meses e que posteriormente permaneceram acompanhando no serviço. Os achados coletados foram: tipo de zona de transformação e achados menores e maiores . A impressão colposcópica foi dividida em negativa, menor e maior. Os resultados dos exames citopatológicos também foram coletados com os laudos iniciais e de seguimento, negativo ou com achados alterados, como ASC-H, ASCUS, HSIL, LSIL e AGC.

3.9 TABULAÇÃO E GERENCIAMENTO DE DADOS

Todos os dados foram coletados exclusivamente pela pesquisadora, de forma manual, transcritos e armazenados e registrados em planilha eletrônica *Microsoft Excel* (2016).

3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram resumidos através de tabelas de frequência, as quais foram utilizadas para o desenvolvimento dos testes de hipóteses. A associação, entre variáveis qualitativas foi realizada através dos seguintes métodos: Teste Exato de Fisher, Teste Qui-Quadrado de Mantel-Haenszel e Teste Qui-Quadrado de Cochran-Mantel-Haenszel. O teste Qui-quadrado de Mantel-Haenszel foi utilizado quando uma das variáveis qualitativas está em escala de medida ordinal e apresenta mais de duas categorias de resposta. No caso, as duas variáveis qualitativas estavam em escala ordinal e foi utilizado Teste Qui-Quadrado de Cochran-Mantel-Haenszel. O teste de Fisher foi usado quando havia frequências menores que 5% em algumas das classes das tabelas de frequência.

As análises de concordância, entre antes e após a utilização de estrogênio, foi realizada utilizando o Teste de Homogeneidade Marginal. Na análise de concordância também foram levadas em consideração a característica ordinal das variáveis. Testes Post-Hoc, também conhecidos como teste de comparações múltiplas, usados para identificar quais dos pares de grupos são diferentes.

As comparações ao longo do tempo foram realizadas utilizando análises não paramétricas de dados longitudinais em experimentos fatoriais. Dados longitudinais são aqueles que são coletados dos mesmos indivíduos ao longo do tempo. Os métodos não paramétricos não exigem suposições distributivas e são aplicáveis a uma variedade de tipos de dados (contínuo, discreto, puramente ordinal e dicotômico). A técnica não-paramétrica baseada no conceito de efeito relativo de tratamento foi a utilizada. Tal técnica permite utilizamos postos e oferece uma estrutura flexível e robusta para a análise; permitindo a análise de dados através de teste de ANOVA.

O *Software R* (versão 4.0.1) foi usado para a realização de todos os cálculos estatísticos. Todos os testes foram avaliados considerando o nível de significância de 5%.

3.11 ÉTICA EM PESQUISA

Este trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do CHC-UFPR e aprovado, sendo registrado sob o número 02993918.9.0000.0096.

Por tratar-se de um estudo retrospectivo o preenchimento de termo de consentimento livre esclarecido foi dispensado.

3.12 MONITORIZAÇÃO DA PESQUISA

A pesquisa foi realizada considerando as medidas de proteção, minimização de riscos, confidencialidade, responsabilidade do pesquisador e da instituição, de acordo com o compromisso firmado com o Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos do CHC/UFPR na ocasião de submissão do projeto.

4 RESULTADOS

Durante o período de estudo foram analisados 263 prontuários que se enquadravam nas características das pacientes na pós menopausa e apresentavam a citologia alterada que faziam parte do banco de dados caracterizando uma amostragem por conveniência.

Destes prontuários 40 pacientes foram excluídas por apresentarem história prévia de câncer de colo do útero, diagnóstico prévio de câncer de vagina e de colo uterino na primeira consulta, histerectomia prévia, prontuário repetido e citologia cérvico-vaginal negativa ou indisponível.

Dentre as 223 pacientes todas foram submetidas ao exame colposcópico, donde 74 pacientes tinham a JEC visualizada (ZT1/2), sendo que a colposcopia foi negativa em 44 mulheres, enquanto as outras 30 apresentavam colposcopia positiva, as quais não entraram no estudo. Entre as colposcopias negativas com ZT 1/2 apenas 20 das 44 tiveram controle pós estrogenização, devido perda de seguimento.

Outras 149 mulheres tiveram a primeira colposcopia com JEC não visível (ZT3) sendo que em 46 os achados colposcópicos foram positivos e não entraram no estudo. Nas outras 103 o exame se mostrou negativo, mas apenas 78 que apresentaram atrofia, realizaram a estrogenização e retornaram para controle evolutivo, novamente devido a perda de seguimento. Portanto, o número final de pacientes que apresentaram colposcopia negativa inicial e que foram estrogenizadas e reavaliadas, foi de 98 mulheres, sendo que todas apresentavam sinais clínicos de atrofia.

A média de idade das pacientes foi de 57 anos, sendo que 75% tinham menos de 60 anos e a paciente com mais idade tinha 78 anos. Todas as mulheres encontravam-se na menopausa, sendo a média de idade relatada de 47,8 anos. Já a sexarca foi referida em média aos 18,1 anos. O número de parceiros foi de 2,5, sendo que a grande maioria referiu 3 parceiros.

Apenas 13 (13,3%) das pacientes incluídas no estudo tiveram algum tipo de infecção sexualmente transmissível e 36 (36,7%) eram tabagistas ou ex-tabagistas.

As categorias citológicas e número de pacientes bem como porcentagem, daquelas que foram estrogenizadas, encontram-se na Tabela 1.

TABELA 1 - DISTRIBUIÇÃO DAS CATEGORIAS CITOLÓGICAS DE ENTRADA

CLASSES	n (%)
ASC-US	35 (35,7%)
LSIL	18 (18,4%)
AGC	6 (6,1%)
ASC-H	33 (33,7%)
HSIL	6 (6,1%)
TOTAL	98 (100,0%)

Quanto ao resultado da colposcopia inicial em relação a topografia da ZT comparativamente à citologia de entrada, considerando apenas as pacientes que retornaram para controle colposcópico em 3 meses, não houve uma melhora importante na visualização da JEC (Tabela 2).

TABELA 2 - ASSOCIAÇÃO ENTRE OS ACHADOS CITOLÓGICOS E O EXAME COLPOSCÓPICO

CITOLOGIA	COLPOSCOPIA INICIAL		COLPOSCOPIA 3 MESES		TOTAL
	ZT 1/ZT 2	ZT 3	ZT 1/ZT 2	ZT 3	
ASC-US	9 (25,7%)	26 (74,3%)	13 (37,1%)	22 (62,8%)	35
LSIL	3 (16,7%)	15 (83,3%)	4 (22,2%)	14 (77,8%)	18
AGC	0	6	1	5	6
ASC-H	8 (24,2%)	25 (75,8%)	14 (42,4%)	19 (57,6%)	33
HSIL	0	6	0	6	6
TOTAL	20 (20,4%)	78 (79,6%)	32 (32,6%)	66 (67,3%)	98

NOTA: Teste de Mantel-Haenszel: inicial - $p = 0,45$; 3 meses: $p = 0,76$

A categoria ASC-H diferente das demais, mostrou uma melhora da ZT 3 de 75,8% para 57,6%. A idade das pacientes dessa categoria apresentava uma mediana mais jovem em relação ao grupo total, que compreendia 33 mulheres, sendo que 22 estavam na faixa etária entre 50 e 59 anos e apenas 2 se encontravam na sétima década de vida.

Em se tratando de nível de significância da estrogenização para um padrão de colposcopia que mostrasse mais adequabilidade ao exame, não houve um bom resultado geral, o que pode ser mais bem visualizado pela representação gráfica do teste de Mantel-Haenszel (Gráficos 1 e 2).

GRÁFICO 1 - PROPORÇÃO DE AMOSTRAS QUANTO A ZONA DE TRANSFORMAÇÃO ANTES DA ESTROGENIZAÇÃO

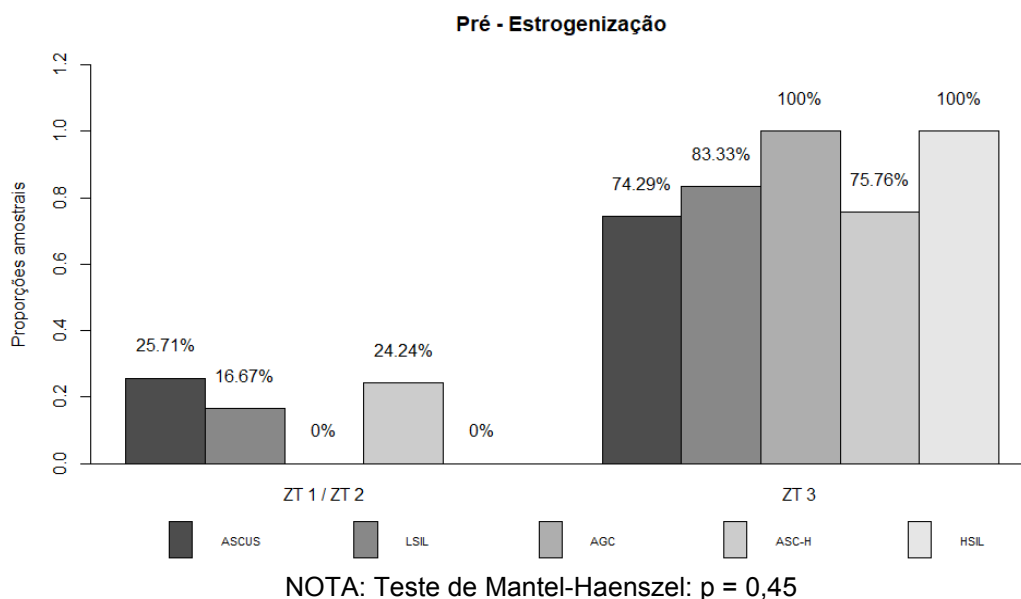
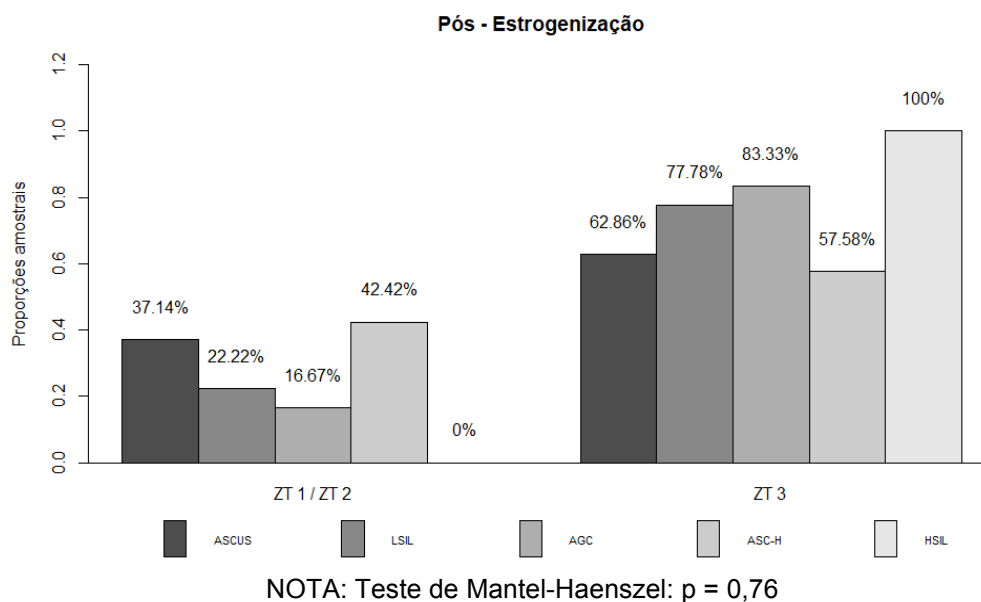


GRÁFICO 2 - PROPORÇÃO DE AMOSTRAS QUANTO A ZONA DE TRANSFORMAÇÃO APÓS O USO DO ESTROGÊNIO



Após as pacientes serem submetidas ao estrogênio conjugado natural na dose de 0,625mg/g, 0,5g no esquema de 21 dias e pausa de 7 dias, durante 3 meses, quando realizada a nova coleta citológica; das 35 pacientes com ASC-US iniciais, 27 ficaram negativas, 3 permaneceram ASC-US e 5 apresentaram citologia de maior grau.

Destas 5 pacientes, uma teve indicação de curetagem uterina endocervical por apresentar pólipos no endocérvice; 2 fizeram conização com bisturi, sendo que um resultado foi compatível com cervicite e outro correspondeu a NIC III com margens livres. Outras 2 pacientes permaneceram no seguimento, sendo que uma apresentou resultado da citologia negativa, enquanto a outra permaneceu com o mesmo resultado inicial.

Na categoria citológica correspondente ao LSIL, que compreendia inicialmente 18 pacientes, 10 negativaram, 5 persistiram com o mesmo resultado e só 2 apresentaram agravo no resultado. Estas pacientes foram submetidas a conização pelo bisturi à frio e tiveram os laudos do exame histopatológico compatíveis com NIC III e margens livres. Uma paciente deste grupo LSIL foi submetida a cone a frio sem repetir a citologia. O resultado da peça cirúrgica foi de NIC III com extensão glandular com negativa no seguimento.

No grupo das 6 mulheres com citologia correspondente a AGC, todas tiveram seus resultados citológicos negativos.

Entre as 33 mulheres portadoras de ASC-H na primeira citologia, 23 negativaram quando repetiram o exame; o resultado ASC- permaneceu o mesmo em 7 mulheres e em 3 casos houve agravamento da categoria, dos quais 1 paciente foi submetida a cone à frio, resultando em NIC II com margens livres, 1 aguarda procedimento e 1 teve indicação de cone, mas não realizou o mesmo.

Das 6 mulheres pertencentes a categoria HSIL, 2 pacientes foram submetidas a procedimento antes de repetir citologia, logo após estrogenização, 1 delas foi para o CAF tendo como resultado NIC II/III com margens comprometidas e permanece em seguimento e 1 foi submetida a conização à frio tendo como resultado uma HSIL e durante o seguimento apresentou exame citológico negativo.

Em 1 caso houve negativação da citologia após a estrogenização e em 2 outros casos, as mulheres apresentaram persistência da lesão. Por fim, houve 1 caso em que o achado citológico se agravou, a peça cirúrgica produto de uma conização revelou um carcinoma microinvasor estágio 1a1.

Na Tabela 3 este resultado da melhora citológica fica claramente demonstrado através do teste de homogeneidade marginal para dados ordinais, com significância estatística ($p < 0,001$).

TABELA 3 - ASSOCIAÇÃO ENTRE CITOLOGIA DE ENTRADA E CITOLOGIA APÓS ESTROGENIZAÇÃO

CITOLOGIA DE ENTRADA	CITOLOGIA APÓS ESTROGÊNIO						p
	NEGATIVO	ASC-US	LSIL	AGC	ASC-H	HSIL	
NEGATIVO	0	0	0	0	0	0	< 0,001
ASC-US	27	3	0	0	5	0	
LSIL	10	4	1	0	1	1	
AGC	6	0	0	0	0	0	
ASC-H	23	7	0	3	0	0	
HSIL	1	1	1	0	1	0	

NOTA: Teste de homogeneidade marginal para dados ordinais (nível de significância de 5%)

Os Gráficos 3 e 4 ilustram os achados citológicos em 3 e 12 meses, em percentuais.

▪ ASC-US

Entre as pacientes da categoria ASC-US na citologia oncológica inicial, 77,1% negativaram e permaneceram negativas na mesma porcentagem com 12 meses. Sendo que 8,6% persistiram com este achado nos três meses iniciais e 11,4 % tiveram o mesmo resultado em 12 meses. Ainda nesse achado citológico inicial 14,3% das mulheres tiveram agravamento da categoria citológica e com 12 meses apenas 5,7% destas, ainda apresentavam um resultado mais grave. As pacientes do grupo ASCUS foram submetidas a procedimento em 5,7% com 12 meses.

▪ LSIL

As mulheres do grupo LSIL tiveram a citologia de controle negativa em 55,6%, e em 12 meses 77,8% delas permaneciam negativas. Apenas 27,8% apresentaram persistência de LSIL na citologia de 3 meses e com 12 meses apenas 5,6% tinham persistência do quadro citológico. Em 11,1% das citologias houve agravo e com 12 meses permaneceram os mesmos 11,1%. Nesta categoria citológica foram submetidas a procedimento em 5,6% dos casos com 3 meses, e em 5,7% com 12 meses.

- AGC

Aquelas pacientes que apresentaram inicialmente citologia oncológica correspondente a AGC, cerca de 100% estavam negativas com 3 meses. Curiosamente com 12 meses 16,1% voltaram a apresentar o achado citológico inicial.

- ASC-H

Entre as mulheres com ASC-H inicial, em 69,7% dos casos estavam negativos em 3 meses e com 12 meses 90,9% encontravam-se com citologia negativa. Nessa categoria, 21,2% tiveram persistência citológica de ASC-H em 3 meses e com 12 meses só 3% apresentaram o mesmo achado citológico. Em 9,1 % das pacientes houve agravamento da citologia em 3 meses enquanto com 12 meses apenas 6,1% delas permaneceram com um achado mais grave. Foi realizado procedimento cirúrgico em 6,1% dos casos no final de 12 meses.

- HSIL

Já as pacientes que inicialmente tinham citologia oncológica HSIL, após 3 meses apenas 16,7% estavam negativas. Houve persistência de HSIL na citologia em 33,3% das mulheres e 16,7% dos casos mostravam agravo. Nesta categoria, 33,3% foram submetidas a procedimento com 3 meses. A citologia de 12 meses dessas mulheres foram negativas em 33,3% dos casos, sendo que 16,7% persistiram com o mesmo resultado e 16,7% tiveram agravo. Novamente em 33,3% dos casos houve realização de procedimento.

GRÁFICO 3 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA CITOLOGIA APÓS USO DE ESTROGÊNIO TÓPICO POR 3 MESES

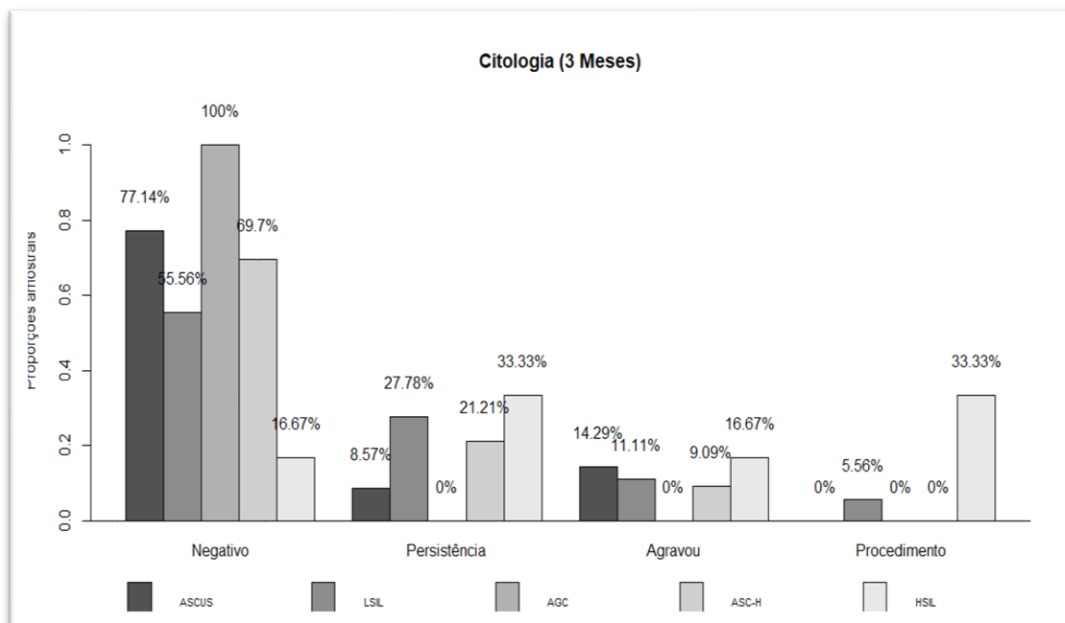
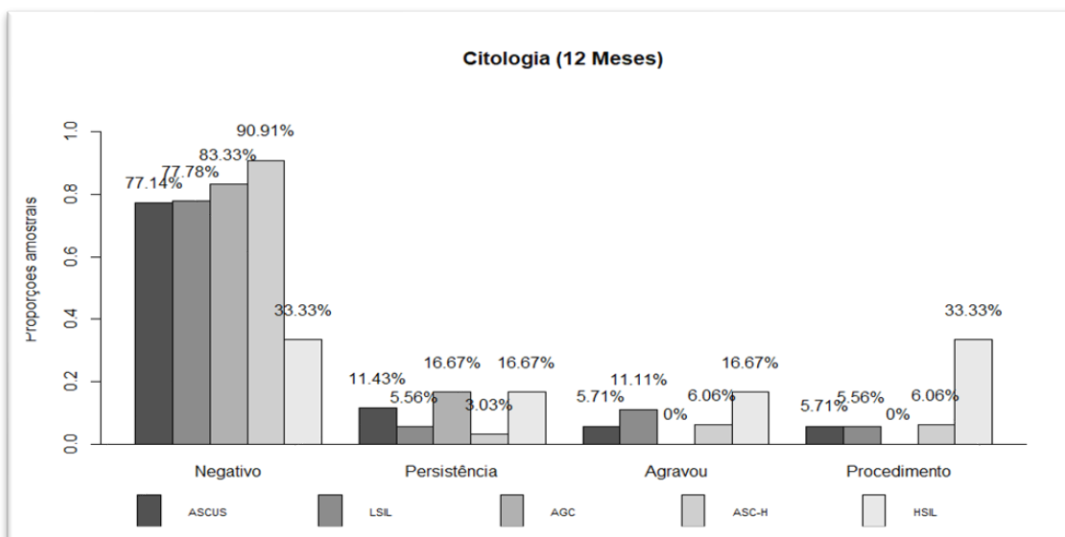


GRÁFICO 4 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA CITOLOGIA APÓS USO DE ESTROGÊNIO TÓPICO APÓS 12 MESES



A Tabela 4 mostra a evolução destas pacientes em 3 e 12 meses após a terapia estrogênica. Utilizando o teste ANOVA houve um nível de significância na

evolução dos achados citológicos, principalmente nos primeiros três meses pós estrogênio.

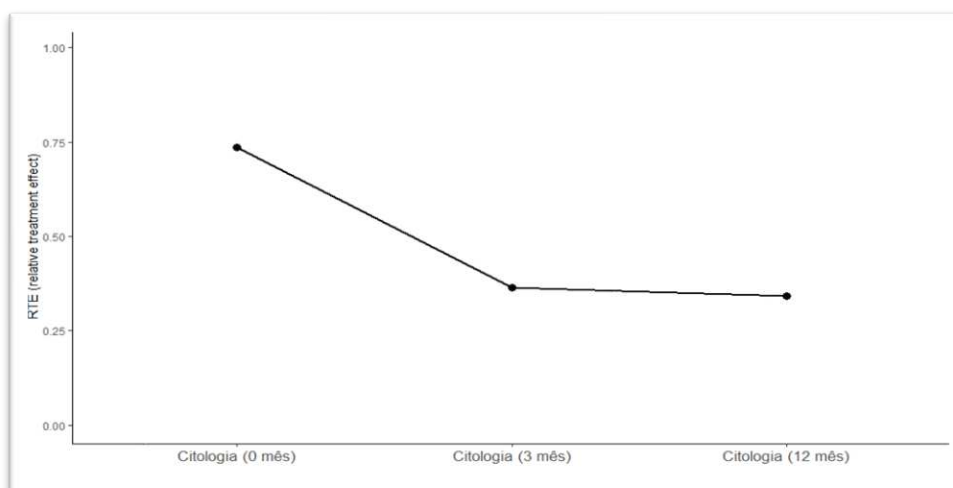
TABELA 4 - EVOLUÇÃO DA CITOLOGIA PÓS ESTROGÊNIO TERAPIA EM 3 E 12 MESES

RESULTADO CITOLOGIA	RANK MÉDIO	n	RTE	TEMPO	ESTATÍSTICA	Df	p
0 Mês	190,6	98	0,73	Meses	124,8	1,85	< 0,001
3 Meses	94,3	95	0,36				
12 Meses	88,8	65	0,34				

NOTA: Teste de ANOVA de efeito relativo de tratamentos (nível de significância de 5%)

A representação gráfica abaixo, avalia fator tempo vs estrogênio, mostrando que uma vez recebida a suplementação de estrogênio, não há uma melhora importante após os 3 meses iniciais (Gráfico 5).

GRÁFICO 5 - EFEITO DA TERAPIA COM ESTROGÊNIO E FATOR TEMPO



NOTA: Anova: $p < 0,001$ RTE: Reactive Treatment Effect (Efeito da Reação Ao Tratamento)

5 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou 98 pacientes, com idade variando entre 50 e 78 anos. Importante ressaltar a escassez de informação em relação as mulheres com mais de 50 anos, apesar do aumento da expectativa de vida. Sabe-se que as mulheres mais velhas têm risco aumentado de diagnóstico de câncer em estágios mais avançados, devido a dificuldade no reconhecimento precoce das lesões precursoras (SELLORS et al., 2002; PICCOLI et al., 2008; BRUNO et al., 2019).

O câncer do colo do útero tem o pico de sua incidência na faixa etária de 45 a 50 anos. Está associado à infecção persistente por tipos oncogênicos do vírus HPV, especialmente o HPV-16 e o HPV-18, responsáveis por cerca de 70% dos cânceres cervicais (INCA, 2020). Embora se saiba que a taxa da infecção por este vírus diminui com a idade, observa-se que há um segundo pico de sua incidência na sexta década de vida e pode estar relacionado com reativação de uma infecção latente (SELLORS et al., 2002; MUÑOZ et al., 2003; BERGENGREN et al., 2019).

De acordo com levantamento realizado pelo SISCAN em 2019, avaliando o programa de controle do câncer de colo do útero no Brasil, foram realizados 7.116.058 exames citológicos, dos quais 2.192.321 (30,80%) em pacientes com 50 anos ou mais, demonstrando esse envelhecimento populacional.

Na presente amostra 81% das mulheres tinham 2 filhos ou mais, reiteirando os achados da literatura quanto à multiparidade como fator de risco. Segundo Jensen et al. (2013), em seu estudo sobre paridade como um cofator para a lesão de alto grau entre mulheres com infecção persistente por HPV, concluíram que o mecanismo responsável pelo aumento do risco é o parto e não a gestação. De acordo com seu estudo, houve aumento no risco de HSIL e forte efeito sobre a persistência do HPV.

Vários mecanismos foram sugeridos para explicar o aumento do risco da lesão precursora ou até mesmo do câncer cervical. Um dos mais aceitos, é o fato de a ZT permanecer na ectocervice por mais tempo nas mulheres múltiparas, facilitando a exposição direta ao vírus (AUTIER et al., 1996). Além disso, possíveis danos teciduais no local deixam o colo mais vulnerável a infecção viral (WILLIAMS et al., 2011).

Um dado relevante na amostra aqui estudada foi a prevalência de tabagismo em 36% das pacientes, número muito acima dos dados encontrados na Pesquisa Nacional de Saúde de 2013, de 11% de mulheres tabagistas no Brasil. Estes

resultados são compatíveis com os estudos que apresentam o tabagismo como um dos fatores de risco mais significativos para o câncer de colo uterino (WINKELSTEIN, 1990; KJELLBERG et al., 2000; INCA, 2020).

A visualização da JEC é importante para a exclusão colposcópica e citológica de doenças pré-invasivas e neoplasias invasoras do colo do útero. Entretanto, em mulheres na pós-menopausa é mais difícil de ser visualizada do que em mulheres mais jovens. Quanto maior for o tempo de menopausa maiores são as alterações na morfologia, citologia e histologia do colo do útero. Os receptores hormonais estão presentes, tanto no epitélio como no estroma e na ZT, sendo que apresentam maior número nesta área. Os receptores permitem a ação do estrogênio no aumento da permeabilidade da água nas junções intercelulares, com consequente edema e aumento de volume do colo uterino (ROBERTS; CORDINER; HART, 1986).

As pacientes deste estudo tinham média de tempo da menopausa de 9,4 anos, sendo o período máximo relatado de 29 anos em relação a última menstruação. Verificou-se que com o uso da terapia com estrogênio houve melhora clínica dos sinais atróficos na colposcopia, como reportado previamente por Roberts et al. em um estudo clássico sobre colposcopia e deficiência hormonal. Os autores observaram que a terapia hormonal altera a aparência colposcópica do colo do útero e que a mudança é maior naquelas que têm os estigmas mais marcados de deficiência hormonal antes de seu uso. Apesar disso, na presente amostra verificou-se que o uso da terapia com estrogênio modificou a taxa de colposcopia satisfatória de 20,4% para 32,7%, o que não foi estatisticamente significativo, diferenciando-se dos outros estudos em que houve essa avaliação (ROBERTS; CORDINER; HART, 1986).

Segundo Richards e Dalrymple (2015), houve diferença no percentual de 32% para 64% no número de colposcopias satisfatórias após o uso de creme de estrogênio vaginal. No entanto, não houve descrição do tempo em que as mulheres de sua amostra encontravam-se na menopausa e nem a média etária das mesmas. A única referência feita foi em termos dos critérios de inclusão que correspondiam há um ano de amenorréia.

Outro grande estudo italiano utilizou estrogênio local sintético de baixa potência durante 3 meses, com melhora no percentual de colposcopias satisfatórias de 17,2% para 73% em pacientes na faixa etária entre $54,9 \pm 5$ anos e tempo de menopausa entre 4 anos e meio a seis anos (PICCOLI et al., 2008).

No estudo de Prendville et al. (1986), com um grupo de 25 mulheres com JEC não visualizada, foi prescrito etinil-estradiol oral 50mcg 2x/dia, por 5 dias. No exame colposcópico de controle após a estrogenização foi observado que 64% das pacientes tiveram a JEC totalmente visualizada, entretanto a faixa etária destas pacientes era de 20 a 47 anos e nenhuma encontrava-se na menopausa.

Adicionalmente pode-se citar Saunders et al. (1990) que trabalharam com uma amostragem composta por 34 pacientes que se encontravam na faixa etária entre 21 e 62 anos, com colposcopia insatisfatória. As pacientes foram divididas em dois grupos, das quais 17 receberam etinilestradiol oral, 30 mcg/d durante 10 dias e outras 17 utilizaram placebo. O primeiro grupo apresentou melhora da visualização da ZT em 71% das mulheres, enquanto no grupo placebo somente 24% tiveram o exame colposcópico satisfatório (PRENDVILLE et al., 1986; SAUNDERS et al., 1990).

Outro estudo realizado na Índia comparou o estradiol oral (25 mcg) e o vaginal (25mcg) em pacientes com ZT não visualizadas na colposcopia inicial. Ambos os esquemas se mostraram eficazes na melhora da visualização da JEC. A média de idade nos grupos I e II foi de $44 \pm 3,4$ anos e $46 \pm 2,6$ anos, respectivamente. A resposta foi comparável em mulheres na pré-menopausa e na pós-menopausa com os 2 regimes de drogas. O regime vaginal teve eficácia de 70%, enquanto o oral 50% e essa diferença não foi estatisticamente significativa (BENIWAL et al., 2016).

Outra pesquisa realizada para estudar a colposcopia inadequada dividiu as pacientes em 2 grupos: 24 mulheres fizeram a aplicação de 200µg de misoprostol por via vaginal e a colposcopia foi repetida após 6 horas. No segundo grupo, outras 24 pacientes receberam prescrição de 50µg estradiol para usar por 7 dias por via de inserção vaginal, seguido por uma nova colposcopia. A repetição da colposcopia foi satisfatória em 70,8% das mulheres que receberam misoprostol vaginal e em 82,6% nas mulheres que usaram estradiol vaginal. A faixa etária das mulheres encontrava-se entre 30 a 50 anos. Não foi descrito tempo de menopausa e nem qual o número de mulheres em amenorreia há mais de um ano (MAKKAR et al., 2014).

Em uma revisão na literatura com objetivo de identificar o motivo da diferença da maioria dos estudos em relação a este trabalho e o porque de haver essa retração da JEC para dentro do canal endocervical, verificou-se que a constituição de água e hidroxiprolina cervical (aminoácido que é específico como método de quantificação do colágeno) é diferente na pré e na pós-menopausa. O colo do útero da mulher

menopausada é menor do que da mulher na menacme porque sofre perda abrupta de água (ROBERTS; CORDINER; HART, 1986).

Em outro estudo conduzido por Okechukwu em 2009, onde foi avaliado a relação entre o alongamento do colo e a presença de receptores de estrogênio e progesterona, foi observado maior número destes receptores do que os presentes em um colo normal. Logo, deduz-se que o colo hipotrófico, que é menor, tem menor quantidade de receptor estrogênico (IBEANU et al., 2010). Tem-se estudado os receptores de estrogênio, de progesterona e uma proteína associada ao receptor de estrogênio - P29 como marcadores funcionais no colo uterino, e observou-se que estão localizados principalmente na ZT e ectocervice. Entretanto, a expressão destes receptores é significativamente maior na região da ZT em relação à ectocérvice. A localização das células receptoras hormonais positivas é observada principalmente nas camadas de células parabasais e intermediárias (CANO et al., 1990).

A topografia e história natural da ZT cervical também são afetados pela idade, estado hormonal e paridade. Na adolescência, a eversão é causada pelo inchaço do estroma cervical em resposta à estimulação hormonal, assim como na gestação, quando há mais tecido endocervical movendo-se para a ectocérvice (REMOUE et al., 2003). Foi demonstrado diminuição de células receptoras de hormônio na ZT de mulheres em estado de hipoestrogenismo, o que explicaria a consistência mais firme do colo e a localização mais caudal da ZT (CANO et al., 1990).

Não foi demonstrado, no presente estudo, um número importante de eversão da JEC através da administração do estrogênio oferecido, porque as pacientes encontravam-se em sua maioria em um período de menopausa tardia, consequentemente sem atividade hormonal endógena. Apresentavam colo pequeno, estenosado, com menor número de receptores hormonais e com JEC profundamente retraída, dificultando mecanicamente o aporte do creme de estrogênio a essa região em que se encontra o maior número de receptores hormonais.

Nos trabalhos cuja pesquisa teve o mesmo foco que o presente estudo, não foi investigado por microcolposcopia a localização da ZT no canal cervical. Talvez essa seja a resposta para tamanha discrepância em relação a este, onde as pacientes eram portadoras de atrofia grave pelo tempo prolongado em estado hipoestrogênico e, provavelmente, a JEC encontrava-se na parte mais profunda do canal cervical, tendo resposta pobre ao estrogênio tópico.

O uso do estrogênio, principalmente na sua formulação tópica, permite restauração dos níveis hormonais locais com diminuição do processo inflamatório, aumento na espessura e na hidratação do epitélio, melhorando a qualidade do esfregaço cérvico-vaginal.(RICHARDS; DALRYMPLE, 2015),

No presente trabalho a citologia teve uma evolução diferente dos achados da colposcopia. O número de casos representativos das categorias ASC-US e ASC-H foi maior do que os correspondentes das lesões LSIL e HSIL. Porém, após a estrogenização, houve um número grande de pacientes que apresentaram o exame citológico negativo. Das pacientes com diagnóstico citológico inicial de ASC-US, 77,1% tiveram o laudo negativo no primeiro exame de controle e permaneceram com o esfregaço negativo na segunda coleta com 12 meses. Desta categoria inicial, apenas 2 (5,7%) necessitaram tratamento cirúrgico. Em um estudo semelhante, a maioria dos ASC-US não foram associados com lesão de alto grau na biópsia dirigida e uma grande porcentagem do padrão ASC-US regrediu quando as alterações atróficas, devido ao hipoestrogenismo, foram contrabalançadas por uma terapia estrogênica adequada. Apenas 5,1% dos casos da categoria ASC-US receberam tratamento cirúrgico, número muito similar ao do presente estudo (PICCOLI et al., 2008).

O ASC-US não representa uma verdadeira categoria diagnóstica, mas inclui amplo espectro de alterações que podem ter patogênese inflamatória, infecciosa, reativa, metaplásica e também neoplásica. Seu diagnóstico baseia-se nas alterações celulares, como aumento do núcleo e halos perinucleares nas células intermediárias, aumento no número de células basais e parabasais e relação núcleo/citoplasma aumentada de 1:3, bem como presença de pseudoqueratose (PICCOLI et al., 2008). A questão mais importante na categorização deste achado indeterminado é o grau de alargamento nuclear, pois o esfregaço atrófico contempla por si só um aumento nuclear de 3 até 4 vezes e não representa nenhuma alteração maligna (ABATI; JAFFURS; WILDER, 1998).

Fica claro que o cenário clínico do ASC-US na mulher na pós menopausa pode levar a maior incidência de falso-positivos e mais indicações de exames invasivos desnecessários, levando a um estresse emocional pelo diagnóstico “indeterminado”. O uso do estrogênio tópico nessas mulheres favorece a precisão diagnóstica da citologia oncológica evitando que a paciente tenha que se submeter a um tratamento excisional (BRUNO et al., 2019). A interpretação dos exames citológicos

nas mulheres menopausadas apresentam muitos desafios. As mudanças hormonais (hipoestrogenismo), que levam a reações atróficas e ou inflamatórias, produzem aumento dos achados atípicos nas células escamosas cervicais, podendo mimetizar as lesões intraepiteliais e até mesmo o câncer (MOSSA et al., 2001). Habilidade e proficiência são, portanto, absolutamente essenciais para o diagnóstico citológico correto. Isto é ainda mais importante em situações como as ASC ou LSIL, que não tem características semelhantes nos diferentes grupos etários. Esses fatos também foram validados por outros trabalhos como no de Ansari et al., em 2012.

Ao realizar análise citomorfológica de esfregaços citológicos de mulheres com mais de 60 anos, Backes et al. (2019) tiveram, na citologia de entrada, 95% das amostras classificadas como atróficas, e 10% como LSIL. Abati, Jaffurs e Wilder tentaram diferenciar células escamosas atípicas indeterminadas das alterações reativas atróficas nas mulheres na pós menopausa, e encontraram no exame de controle 12% com resultado de LSIL após o uso do estrogênio tópico. Observa-se que as mulheres com atrofia grave apresentam alterações degenerativas benignas e acabam mimetizando as alterações vistas na citologia LSIL, o que pode levar a uma conduta mais conservadora, conforme consenso dos *guidelines* americanos de 2006 da *American Society for Colposcopy and Cervical Pathology* (ABATI; JAFFURS; WILDER, 1998; WRIGHT et al., 2007; BACKES et al., 2019). Na presente amostra as pacientes com exame citológico inicial de LSIL negativaram em 55,6% dos casos na primeira citologia de controle, sendo que 10% precisaram de tratamento excisional no segundo controle por apresentarem persistência do achado. Revelaram lesões de alto grau no estudo histopatológico das peças cirúrgicas, o que lembra que, embora exista grande incidência de falso-positivos, ainda assim, existe um número baixo de citologia LSIL que pode, na verdade, ser um subdiagnóstico de uma lesão de alto grau. Portanto, o uso do estrogênio está indicado para o manejo adequado desta população, melhorando tanto os resultados falso-positivos como os falso-negativos.

Uma alternativa no manejo dessas pacientes após a menopausa é sugerida na literatura por meio da investigação pelo teste HPV, que é muito menos comum ser positivo nesta faixa etária do que nas mulheres no menacme, mas quando positivo, sinalizam para risco maior de evolução para HSIL em 5 anos, enquanto as lesões de baixo grau DNA/HPV negativas apresentam risco de 5% de evoluírem para NIC II ou NICIII neste mesmo período de tempo (ZHAO et al., 2010). Outro estudo explica que não houve benefício no teste HPV como marcador de doença de alto grau nas

mulheres na pós-menopausa, pois os tipos de HPV encontrados nesta população não correspondem aos tipos 16 e 18 (BERGENGREN et al., 2019). Vários estudos tem mostrado que os achados de ASC-H e ASC-US/LSIL na pós-menopausa não tem o mesmo valor preditivo positivo para lesões intraepiteliais de alto grau que o mesmo achado na menacme (FREMAN-WANG, 2011; WALKER, 2011; RICHARDS, 2014).

Saad et al. (2006) compararam a citologia com a histopatologia, tendo como objetivo identificar as características citomorfológicas das lesões de alto grau em mulheres na pós-menopausa e identificar os critérios que poderiam levar a uma interpretação inacurada do esfregaço e, em consequência, a resultados falso-positivos. Estes autores descreveram maior frequência de citologia com resultado ASC-H nas mulheres acima de 55 anos. Também identificaram que a deficiência estrogênica nas mulheres pós-menopausa leva a mimetismos que lembram a lesão de alto grau, fazendo do diagnóstico ASC-H em mulheres com mais idade estatisticamente menos confiável e com valor preditivo positivo menor em comparação ao mesmo resultado quando obtido de mulheres no menacme. Embora alguns autores considerem estas lesões ASC-H como lesões de alto grau, os critérios diagnósticos não são definidos e deve haver cautela no manejo dessa categoria, pois a concordância entre observadores é fraca (SAAD et al., 2006; MASSAD et al., 2013).

As taxas de lesão de alto grau na citologia ASC-H variam na literatura entre 10% e 80% (SELVAGGI, 2008; CYTRYN et al., 2009; RATREE et al., 2019). Na amostra aqui estudada observou-se quantidade relativamente alta de exames citológicos iniciais correspondentes a ASC-H (33,7%). A recomendação do Ministério da Saúde para essas mulheres é a melhora na qualidade da citologia por meio do uso de estrogênios tópicos antes da realização do exame (INCA, 2020). Após a administração de creme de estrogênio, aproximadamente 69,7% dos casos tiveram os seus resultados negativos na citologia de controle e nenhuma delas apresentou lesão de alto grau ou câncer até o fim do período de seguimento em 12 meses. Ratree et al. (2019), ao investigarem mulheres com ASC-H, encontraram taxa de 30,8% de lesões de alto grau e taxa de 4,5% de doença invasora. Na presente amostra registrou-se apenas uma paciente com NIC II na peça cirúrgica.

A interpretação do esfregaço cervicovaginal na mulher na perimenopausa e na pós menopausa pode ser desafiadora porque as alterações atróficas, às vezes, imitam as lesões de alto grau e até mesmo o carcinoma. As células parabasais e as alterações reativas e inflamatórias podem facilmente mimetizar as alterações

encontradas nas lesões de alto grau, que são representadas pela cromatina grosseira, membrana nuclear irregular e hiper cromasia do núcleo da célula (HALFORD; WALKER; DUHIG, 2010). No presente estudo observou-se baixa e verdadeira incidência de HSIL. Apenas uma paciente teve o resultado da citologia de controle negativo após o uso do creme de estrogênio.

Segundo Moore et al. (2008), que compararam a citologia de pacientes com mais de 35 anos na pré e na pós-menopausa, houve maior incidência de lesão de alto grau nas pacientes que já estavam na menopausa e não deveriam mais fazer parte do grupo de risco, em uma taxa de 41% vs 29% em relação às mulheres na menacme. Em outro trabalho onde foi comparada a incidência de alterações citológicas nas mulheres na pós-menopausa precoce e nas de mais de 65 anos de idade, foi observado que apesar do menor número de anormalidades nesta faixa de mulheres mais idosas, as mesmas foram mais graves em relação às mais jovens (MOORE et al., 2008; ÇAKMAK; KÖSEOĞLU, 2014). Uma vez que a HSIL tem menor chance de regredir nas mulheres mais idosas, isso faz com que o reconhecimento das lesões de alto grau nas mulheres mais idosas tenha importante significado clínico para o seu manejo adequado (SAAD et al., 2006).

Aqui observou-se que mesmo a lesão de alto grau pode apresentar diagnóstico falso-positivo, embora menos comum que nas categorias ASC-US e ASC-H. Isto corrobora com a dificuldade na interpretação dos esfregaços atróficos. Aquelas pacientes que tiveram doença de alto grau diagnosticada durante o estudo receberam tratamento adequado e acompanhamento de acordo com as diretrizes brasileiras segundo o Ministério da Saúde (INCA, 2020).

Nesta pesquisa, o estrogênio conjugado foi utilizado para o tratamento da atrofia genital, por um período médio de 3 meses até a nova avaliação, estrogênio de media potência que faz parte do protocolo usado no serviço de Patologia do Trato Genital Inferior do CHC/UFPR, tendo seu uso mantido nos retornos subsequentes. O termo "estrogênio conjugado" refere-se a uma mistura natural de sais de sódio hidrossolúveis dos sulfatos de estrogênio que contém pelo menos dez sulfatos de estrogênio diferentes. Os compostos estrogênicos de maior potência são o estradiol (que não está disponível no Brasil sob a forma de creme vaginal) e o estrogênio conjugado, que foi utilizado neste estudo. Os compostos estriol e colpotrofina têm muito baixa atividade estrogênica (KUHL, 2005; BHAMRA et al., 2011).

Outros estudos realizados para avaliar o efeito do estrogênio sobre o epitélio do colo uterino utilizaram estrogênios de menor potência, como o estriol, empregado por Richards et al. (2015), quando o creme foi utilizado por um período de 6 semanas. Ou ainda estrogênios orais em estudos mais antigos, como no de Saunders et al., em 1990, que usou etinil estradiol em um período de 10 dias, sendo que os resultados reportados pelos autores sempre foi satisfatório no sentido de mudanças no epitélio do colo uterino que levaram a melhoria da citologia oncológica.

O conhecimento da distribuição dos receptores de estrogênio nos vários compartimentos do colo são importantes para se entender as alterações que ocorrem neste local (MUSTAFA; ELHANBALY, 2020). A principal localização dos receptores está na ZT e no tecido ectocervical, mas há diminuição após a menopausa, assim como a localização da ZT encontra-se no interior do canal cervical, com progressão em direção a parte superior do mesmo a medida que a idade avança, causando dificuldade anatômica para o acesso do estrogênio tópico ao receptor (BACKES et al., 2019).

Paterson já descreveu, em 1982 que a absorção do estrogênio ocorre principalmente nos primeiros meses de tratamento, enquanto o epitélio ainda está mais fino, promovendo melhor absorção. Depois desse período o epitélio torna-se mais espesso e maduro com menor resposta ao estrogênio. Isto é explicado pela concentração dos receptores ser maior nas camadas parabasal e intermediária do epitélio escamoso. Quando existe maturação epitelial completa, o terço superior do epitélio é composto pelas células superficiais que são pobres em receptores, não reagindo ao aporte do creme de estrogênio. Também se observou que as células receptoras positivas para o estrogênio encontram-se, em sua maioria, na área correspondente a metaplasia escamosa imatura em comparação com a ectocervice (REMOUE et al., 2003; MUSTAFA; ELHANBALY, 2020). No presente estudo observou-se exatamente a mesma coisa. Há um efeito reativo à terapia de estrogênio nos primeiros três meses de terapia, que permanece estável até os 12 meses de seguimento.

5.1 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Por se tratar de um estudo observacional e retrospectivo, não foi possível excluir o viés de seleção na inclusão dos casos, podendo também ter contribuído para limitação da disponibilidade de informações importantes. Como as pacientes foram encaminhadas das Unidades Básicas de Saúde, não foi possível fazer revisão das lâminas da citologia

5.2 PERSPECTIVAS FUTURAS

A adesão ao tratamento completo por 12 meses foi um ponto positivo no trabalho, e a contribuição deste trabalho está no uso do estrogênio conjugado em forma de creme que apresentou melhoria nos exames citológicos de controle.

Uma possibilidade futura seria a realização de microcolposcopia dessas mulheres que apresentam uma ZT não visualizada antes e após estrogenizar para determinar verdadeiramente a posição em que a JEC ocupa no canal.

Isso nos permitiria superar um dos limites da colposcopia na avaliação da junção escamo-colunar e estabelecer a possibilidade de averiguar real lesão nessa localização.

Outra sugestão, seria realizar investigação através da análise imunoistoquímica dos RE do epitélio glandular das pacientes com AGC, antes e após a estrogenização, a fim de determinar a lesão precursora do adenocarcinoma, tumor de mais difícil estudo devido sua raridade.

6 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que:

1. O uso do estrogênio não melhorou a posição da JEC / ZT, presumivelmente devido a idade e tempo prolongado de menopausa das pacientes do estudo.
2. O estrogênio tópico melhora as alterações citológicas, levando a diminuição das citologias falso-positivas, indicando aquelas que realmente precisam de tratamento. A conduta apropriada no acompanhamento das alterações citológicas é estrogenização prévia à nova coleta de citologia e da realização da colposcopia, diminuindo assim a incidência de falso-positivo e até mesmo falso-negativos na citologia.

REFERÊNCIAS

- ABATI, A.; JAFFURS, W.; WILDER, A. M. Squamous Atypia in the Atrophic Cervical Vaginal Smear A New Look at an Old Problem. **Cancer**, v. 25, n. 84, p. 218–225, 1998.
- AIDÉ, S., ALMEIDA, G., DO VAL, I., VESPA, N., CAMPANER, A. B. Neoplasia intraepitelial cervical. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 21, n. 4, p. 166-70, 2009.
- ANDERSON M, JORDAN J, MORSE A. The normal cervix. In: ANDERSON M, JORDAN J., MORSE A. **Integrated Colposcopy for Colposcopists, Histopathologists and Cytologists**. New York: Chapman & Hall Medical, 1992, p. 11.
- ANSARI, M.; MEHDI, G.; ARIF, S. H., KHAN, T. Smear Patterns and Spectrum of Premalignant and Malignant Cervical Epithelial Lesions in Postmenopausal Indian Women: a hospital-baesd study. **Diagnostic Cytopathology**, v. 40, n. 11, p. 976-83, 2012.
- APGAR, B. S.; BROTZMAN, G. L.; SPITZER, M. Papilomavírus Humano e Mecanismos de Oncogênese. In: **Colposcopia Princípios e Prática**. 2ª ed. [s.l.] Editora Revinter LTDA, 2008. p. 21-33.
- AUE-AUNGKUL, A. et al. “See and treat” approach is appropriate in women with high-grade lesions on either cervical cytology or colposcopy. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 12, n. 7, p. 1723-6, 2011.
- AUTIER, P. et al. Transformation zone location and intraepithelial neoplasia of the cervix uteri. **British Journal of Cancer**, v. 74, n. 3, p. 488–490, 1996.
- BACKES, L. et al. Análise citomorfológica de esfregaços citológicos cervicais de mulheres com idade superior a 60 anos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 55, n. 2, p. 142-147, 2019.
- BENIWAL, S. et al. Comparison of vaginal versus oral estradiol administration in improving the visualization of transformation zone (TZ) during colposcopy. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 10, n. 7, p. QC18-QC21, 2016.
- BERGENGREN, L. et al. HPV-based screening for cervical cancer among women 55-59 years of age. **PLoS ONE**, v. 14, n. 6, p. 1-12, 2019.

BERNARD, W. S.; CHRISTOPHER, P. W. **World Cancer Report - Cancer Research for Cancer Prevention, 2020.** Disponível em: <https://www.iccp-portal.org/sites/default/files/resources/IARC%20World%20Cancer%20Report%202020.pdf>. Acesso em: 25 jun. 2020.

BERNE, R. M. et al. **Fisiologia**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 1082p.

BHAMRA, R. K. et al. A randomized, multiple-dose parallel study to compare the pharmacokinetic parameters of synthetic conjugated estrogens, A, administered as oral tablet or vaginal cream. **Menopause**, v. 18, n. 4, p. 393-399, 2011.

BORNSTEIN, J. et al. Colposcopic Terminology of the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy. **Obstetric & Gynecology**, v. 120, n. 1, p. 166-172, 2011.

BOWRING, J. et al. The Swede Score : Evaluation of a Scoring System Designed to Improve the Predictive Value of Colposcopy. **Journal of Lower Genital Tract Disease**, v. 14, n. 4, p. 301-305, 2010.

BRIDE, M. B. MAC; RHODES, D. J.; SHUSTER, L. T. Vulvovaginal Atrophy. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 85, n. 1, p. 87-94, 2010.

BRODERS AC. Carcinoma in situ contrasted with benign penetrating epithelium. **JAMA**, v. 99, n. 20, p. 1670-74, 1932.

BROTHERTON, J. M. L.; GERTIG, D. M. Primary prophylactic human papillomavirus vaccination programs: Future perspective on global impact. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 9, n. 8, p. 627-639, 2011.

BROWN, D. R.; WEAVER, B. Human Papillomavirus in Older Women : New Infection or Reactivation ? **The Journal of Infections Diseases**, v. 207, n. 2, p. 1-2, 2012.

BRUNO, M. T. et al. Management of ASC-US / HPV positive post-menopausal woman. **Virology Journal**, v. 16, n. 39, p. 16-19, 2019.

BURGHARDT, E., ÖSTOR, G., MATTINGLY, R. **Histopathologic basis of colposcopy**. In: BURGHARDT, E., ÖSTOR, G., MATTINGLY, R. H. Colposcopy - Cervical Pathology. New York: Thieme Verlag, 1991, p. 74.

BURKE, L., MATHEWS, B. E. **Development of the transformation zone**. In: BURKE, L., MATHEWS, B. E. Colposcopy in Clinical Practice. Philadelphia: F A Davis Company, 1977, p. 41.

ÇAKMAK, B.; KÖSEOĞLU, D. R. Comparison of cervical cytological screening results between postmenopausal and elderly women. **Journal of Pathology**, v. 30, n. 1, p. 38-42, 2014.

CALLEJA-AGIUS, J.; BRINCAT, M. P. The urogenital system and the menopause. **Climacteric**, v. 18, n. sup1, p. 18-22, 2 out. 2015.

CANO, A. et al. Expression of estrogen receptors, progesterone receptors, and an estrogen receptor-associated protein in the human cervix during the menstrual cycle and menopause. **Fertility and Sterility**, v. 54, n. 6, p. 1058-1064, 1990.

CAPSIE, Â. et al. Treatment of CIN after menopause. **European Journal of Gynecology Reproductive Biology**, v. 95, n. 2, p. 175-180, 2001.

CASTAÑÓN, A. et al. Cervical Screening at Age 50-64 Years and the Risk of Cervical Cancer at Age 65 Years and Older: Population-Based Case Control Study. **PLoS Medicine**, v. 11, n. 1, p. e1001585, 2014.

CASTELLSAGUÉ, X. Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. **Gynecologic Oncology**, v. 110, n. 3, suppl. 2, p. 4-7, 2008.

CASTLE, P. E. et al. A cross-sectional study of a prototype carcinogenic human papillomavirus E6/E7 messenger RNA assay for detection of cervical precancer and cancer. Clinical cancer research. **An Official Journal of the American Association for Cancer Research**, v. 13, n. 9, p. 2599-2605, 2007.

CHEN, Q. et al. High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia Detected by Colposcopy-Directed or Random Biopsy Relative to Age, Cytology, Human Papillomavirus 16, and Lesion Size. **Journal of Lower Genital Tract Disease**, v. 20, n. 3, p. 207-212, 2016.

CHENG, X. et al. The effectiveness of conization treatment for post-menopausal women with high-grade cervical intraepithelial neoplasia. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 5, n. 1, p. 185-188, 2013.

CHOMPOOTAWEEP, S et al. The use of two estrogen preparations (a combined contraceptive pill versus conjugated estrogen cream) intravaginally to treat urogenital

symptoms in postmenopausal Thai women: a comparative study. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, vol. 64,2 (1998): 204-10.

CHOW, V. T. K. et al. Identification of multiple genital HPV types and sequence variants by consensus and nested type-specific PCR coupled with cycle sequencing. **Pathology**, v. 32, n. 2, p. 204-208, 2000.

COELHO, F. R. G. et al. Estrogen and progesterone receptors in human papilloma virus-related cervical neoplasia. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, n. 1, p. 83-88, 2004.

COMISSÃO NACIONAL DE INCORPORAÇÃO DE TECNOLOGIAS NO SUS-CONITEC. MINISTÉRIO DA SAÚDE - BRASIL. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Infecções Sexualmente Transmissíveis, 2015**. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2015/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-atencao-integral-pessoas-com-infeccoes>. Acesso em: 25 jun. 2020.

COPPLESON, M., PIXLEY, E., REID, B. **Natural history of squamous metaplasia and the transformation zone**. In: COPPLESON M, PIXLEY E, REID B. Colposcopy a Scientific and Practical Approach to the Cervix, Vagina and Vulva in Health and Disease. Springfield: Charles C Thomas- Publisher, 1986, p. 73.

CROSBIE, E. J. et al. Human papillomavirus and cervical cancer. **The Lancet**, v. 382, n. 9895, p. 889-899, 2013.

CYTRYN, A. et al. Prevalence of cervical intraepithelial neoplasia grades II/III and cervical cancer in patients with cytological diagnosis of atypical squamous cells when high-grade intraepithelial lesions (ASC-H) cannot be ruled out. **São Paulo Medical Journal**, v. 127, n. 5, p. 283-287, 2009.

DE TOMASI, J. B.; OPATA, M. M.; MOWA, C. N. Immunity in the cervix: Interphase between immune and cervical epithelial cells. **Journal of Immunology Research**, v. 16, n. 4, p. 7693183, 2019.

DE VILLIERS, E. M. et al. Classification of papillomaviruses. **Virology**, v. 324, n. 1, p. 17-27, 2004.

ELKINGTON, K. W. Necessity of endocervical curettage in colposcopy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 156, n. 5, p. 1360-1361, 1987.

ELSON, D. A. et al. Sensitivity of the cervical transformation zone to estrogen-induced

squamous carcinogenesis. **Cancer Research**, v. 60, n. 5, p. 1267-1275, 2000.

FARRELL, E. A. M. Genitourinary syndrome of menopause. **Australian Family Physician**, v. 46, n. 7, p. 481-484, 2017.

FERNANDES, T. et al. Efficacy of vaginally applied estrogen, testosterone, or polyacrylic acid on vaginal atrophy: A randomized controlled trial. **Menopause**, v. 23, n. 7, p. 792-798, 2016.

FLYNN, K.; RIMM, D. L. Diagnosis of "ASCUS" in women over age 50 is less likely to be associated with dysplasia. **Diagnostic Cytopathology**, v. 24, n. 2, p. 132-136, 2001.

FORBES, C.; JEPSON, R.; MARTIN-HIRSCH, P. Interventions targeted at women to encourage the uptake of cervical screening. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 3, p. CD002834, 2002.

FREEMAN-WANG, T., WALKER, P. Colposcopy in special circumstances: Pregnancy, immunocompromise, including HIV and transplants, adolescence and menopause. **Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v. 25, n. 5, p. 653-665, 2011.

GAGE, J. C. et al. Number of cervical biopsies and sensitivity of colposcopy. **Obstetrics and Gynecology**, v. 108, n. 2, p. 264-272, 2006.

GANDHI, J. et al. Genitourinary syndrome of menopause: an overview of clinical manifestations, pathophysiology, etiology, evaluation, and management. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 215, n. 6, p. 704-711, 2016.

GLINIEWICZ, K. et al. Comparison of the vaginal microbiomes of premenopausal and postmenopausal women. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. 2, p. 1-9, 2019.

GRAVITT, P. E.; WINER, R. L. Natural history of HPV infection across the lifespan: Role of viral latency. **Viruses**, v. 9, n. 10, p. 1-10, 2017.

GUZZETTA, G. et al. The impact of HPV female immunization in Italy: Model based predictions. **PLoS ONE**, v. 9, n. 3, p. 1-10, 2014.

HALFORD, J.; WALKER, K. A.; DUHIG, J. A review of histological outcomes from peri-menopausal and post-menopausal women with a cytological report of possible high grade abnormality: An alternative management strategy for these women. **Pathology**,

v. 42, n. 1, p. 23-27, 2010.

HERMANSSON, R. S. et al. HPV prevalence and HPV-related dysplasia in elderly women. **PLoS ONE**, v. 1, p. 1-9, 2018.

HERRERO, R. et al. Design and methods of a population-based natural history study of cervical neoplasia in a rural province of Costa Rica: the Guanacaste Project. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 1, n. 5, p. 362-375, 1997.

HOLOWATY, P., MILLER, A. B., ROHAN, T. Natural history of dysplasia of the uterine cervix. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 91, n. 3, p. 252-8, 1999.

IBEANU, O. A. et al. Hypertrophic cervical elongation: Clinical and histological correlations. **International Urogynecology Journal**, v. 21, n. 8, p. 995-1000, 2010.

IGLESIA, C. B. What's new in the world of postmenopausal sex? **Current Opinion in Obstetrics and Gynecology**, v. 28, n. 5, p. 449-54, 2016.

INTERNATIONAL FEDERATION OF CERVICAL PATHOLOGY AND COLPOSCOPY, 2011. **Training course in colposcopy and the prevention of cancer**. Disponível em: <https://ifcpc.org/>. Acesso em: 7 ago 2020.

INSTITUTO NACIONAL DE CANCER. MINISTÉRIO DA SAÚDE - BRASIL. **Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer de Colo de Útero, 2016**. Disponível em: https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//diretrizesparaorastreamentodocancerdocolodoutero_2016_corrigido.pdf. Acesso em: jul. 2020.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Estimativa 2020 : incidência de câncer no Brasil / INCA**, 2019. Disponível em: <http://www.inca.gov.br> p. 52 . Acesso em out.2020

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. MINISTÉRIO DA SAÚDE - BRASIL. **Pesquisa Nacional de Saúde**. Disponível em: < <https://www.inca.gov.br/observatorio-da-politica-nacional-de-controle-do-tabaco/dados-e-numeros-prevalencia-tabagismo>. Acesso em: 5 maio, 2020.

JENSEN, K. E. et al. Parity as a cofactor for high-grade cervical disease among women with persistent human papillomavirus infection: A 13-year follow-up. **British Journal of Cancer**, v. 108, n. 1, p. 234-239, 2013.

JORDAN, M., SINGER, A. **The functional anatomy of the cervix, the cervical**

epithelium and the stroma. In: JORDAN M, SINGER A. O. The Cervix. Oxford: Blackwell, 2006, p. 15.

KHALIFA, M. A. et al. Histologic Features of Hysterectomy Specimens from Female-Male Transgender Individuals. **International Journal of Gynecological Pathology**, v. 38, n. 6, p. 520-527, 2018.

KHANGAR, B. et al. Assessment of symptoms and quality of life among postmenopausal women in a tertiary care hospital in Kochi, South India: A hospital-based descriptive study. **Journal of Mid-Life Health**, v. 9, n. 2, p. 185-190, 2018.

KISHI, Y., M., et al. Colposcopy for Postmenopausal Women **Gynecologic Oncology** v.20 (1), p.62-70,1985.

KJELLBERG, L. et al. Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intra-epithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. **British Journal of Cancer**, v. 82, n. 7, p. 1332-1338, 2000.

KUHL, H. Pharmacology of estrogens and progestogens: influence of different routes of administration. **Climacteric**, v. 8, Suppl 1, p. 3-63, 2005.

LABRIE, F. et al. Science of intracrinology in postmenopausal women. **Menopause**, v. 24, n. 6, p. 702-712, 2017.

LEE, S., SABOURIN, J., GAGE, J., FRANKO, A., NATION, J. G., DUGGAN, M. Squamous intraepithelial lesions in cervical tissue samples of limited adequacy and insuficiente for grading as low or hight grade: outcome, clinico-pathological correlates, and preditive role of p16^{ink4a} and Ki67 biomarker staining. **Journal of Low Genital Tract Disease**, v. 19, n. 1, p. 35-45, 2015.

LEV-SAGIE, A. Vulvar and Vaginal Atrophy: Physiology, Clinical Presentation, and Treatment Considerations. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 58, n. 3, p. 476-491, 2015.

LOOKER, K. J. et al. Evidence of synergistic relationships between HIV and Human Papillomavirus (HPV): systematic reviews and meta-analyses of longitudinal studies of HPV acquisition and clearance by HIV status, and of HIV acquisition by HPV status. **Journal of the International AIDS Society**, v. 21, n. 6, p. e25110, 2018.

LÖRINCZ, A. T. Hybrid CaptureTM Method for Detection of Human Papillomavirus DNA

in Clinical Specimens: A Tool for Clinical Management of Equivocal Pap Smears and for Population Screening. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 22, n. 6, p. 629-636, 1996.

MAC BRIDE, M. B.; RHODES, D. J.; SHUSTER, L. T. Vulvovaginal atrophy. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 85, n. 1, p. 87-94, 2010a.

MACGREGOR, J. E.; FRASER, M. E.; MANN, E. M. F. Screening for Cancer of the Cervix. **World Journal Surgery**, v. 285, n. 7391, p. 910, 1989.

MAKKAR, B. et al. Vaginal misoprostol versus vaginal estradiol in overcoming unsatisfactory colposcopy. **Gynecologic and Obstetric Investigation**, v. 77, n. 3, p. 176-179, 2014.

MASSAD, L. S. et al. Updated Consensus Guidelines for the Management of Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and Cancer Precursors. **Obstetrics and Gynecology**, v. 121, n. 4, p. 829-846, 2013.

MC CREDIE, M., SHARPLIS, K., PAUL, C., BRENANYAI, J., MEDLEY, G., JONES, R. et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. **Lancet Oncology**, v. 9, p. 425-34, 2008.

MEEVASANA, V. et al. Is the correlation between Papanicolaou smear and histopathology results affected by time to colposcopy? **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 15, n. 4, p. 1527-1530, 2014.

MELNIKOW, J., NUOVO, J., WILLAN, A. R., CHAN, B. K. S., HOWELL, L. P. Natural history of cervical squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. **Obstetrics & Gynecology**, v. 92, n. 4, p. 727-34, 1998.

MITCHELL, M. F. et al. Colposcopy for the diagnosis of squamous intraepithelial lesions: A meta-analysis. **Obstetrics & Gynecology**, v. 91, n. 4, p. 626-631, 1996.

MOORE, K. N. et al. Cervical dysplasia among women over 35 years of age. **American Journal of Obstetric and Gynecology**, v. 199, n. 5, p. 1-5, 2008.

MOSCICKI, A. B. et al. Regression of low-grade squamous intra-epithelial lesions in young women. **Lancet**, v. 364, n. 9446, p. 1678-1683, 2004.

MOSSA, M. A.; CARTER, P. G., BARTON, D. P.; YOUNG, M. P. Cervical

Intraepithelial Neoplasia in Postmenopausal Women. **Obstetrician & Gynaecologist**, v. 3, n. 3, p. 157-157, 2001.

MUECK, A. O. et al. Treatment of vaginal atrophy with estriol and lactobacilli combination: a clinical review. **Climacteric**, v. 21, n. 2, p. 140-147, 2018.

MUHLEISEN, A. L.; HERBST-KRALOVETZ, M. M. Menopause and the vaginal microbiome. **Maturitas**, v. 91, p. 42-50, 2016.

MUÑOZ, N. et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. **The New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 6, p. 518-527, 2003.

MUSTAFA, F. E. Z. A.; ELHANBALY, R. Distribution of estrogen receptor in the rabbit cervix during pregnancy with special reference to stromal elements: an immunohistochemical study. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2020.

NAI, G. A. et al. Presença de células da junção escamo-colunar em esfregaços cérvico-vaginais de mulheres acima de 40 anos. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia**, v. 33, n. 3, p. 128-132, 2011.

NAMS – NORTH AMERICAN MENOPAUSE SOCIETY. The role of local vaginal estrogen for treatment of vaginal atrophy in postmenopausal women. **Menopause**, v. 14, n. 3, p. 357-369, 2007.

NARICE, B. F. et al. Second Harmonic Generation microscopy reveals collagen fibres are more organised in the cervix of postmenopausal women. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 14, n. 1, p. 1-8, 2016.

NAUD, P. et al. História da Colposcopia: do Invento de Hinselmann aos Ensaios Clínicos Atuais. **FEMINA**, v. 34, n. 9, p. 597–605, 2006.

NAYAR, R., WILBUR, D. C. **The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. Definition, Criteria and Explanatory Notes**. 3^a ed. Springer, 2015.

NAYAR, R.; WILBUR, D. C. The pap test and bethesda 2014: “The reports of my demise have been greatly exaggerated.” (After a quotation from Mark Twain). **Acta Cytologica**, v. 59, n. 2, p. 121-132, 2015.

OLIVEIRA, G. G. et al. Management of Atypical Squamous Cell Cases : A Prospective Study of Women seen at a Private Health Service in Northeastern Brazil Conduta em

casos de células escamosas atípicas: um estudo prospectivo de mulheres atendidas pelo serviço de saúde privado no. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 40, p. 121-126, 2018.

OKECHUKWU, A. I. et al. Hypertrophic cervical elongation: clinical and histological correlations. **International Urogynecology**, v. 21, p. 995-1000, 2009.

OSTOR, A. G. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. **International Journal of Gynecology Pathology**, v. 12, n. 2, p. 186-92, 1993.

OXLUND, B. S. et al. Collagen concentration and biomechanical properties of samples from the lower uterine cervix in relation to age and parity in non-pregnant women. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 8, p. 1-9, 2010.

PALACIOS, S. et al. Update on management of genitourinary syndrome of menopause: A practical guide. **Maturitas**, v. 82, n. 3, p. 307-312, 2015.

PALACIOS, S.; MEJIA, A.; NEYRO, J. L. Treatment of the genitourinary syndrome of menopause. **Climacteric**, v. 18 Suppl 1, p. 23-29, 2015.

PALEFSKY, J. M.; HOLLY, E. A. Chapter 6: Immunosuppression and co-infection with HIV. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 31, p. 41-46, 2003.

PALMA, P. D. et al. The risk of false-positive histology according to the reason for colposcopy referral in cervical cancer screening: A blind revision of all histologic lesions found in the NTCC trial. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 129, n. 1, p. 75-80, 2008.

PANAY, N. Genitourinary syndrome of the menopause--dawn of a new era? **Climacteric**, v. 18 Suppl 1, p. 13-17, 2015.

PAPERS, J. B. C. et al. Exploration of Dimensions of Estrogen Potency. **Journal of Biologic Chemistry**, v. 286, n. 15, p. 12971-12982, 2011.

PARKER, S. Follicle Stimulating Hormone: Facts and fallacies. **Journal of the British Menopause Society**, v. 10, n. 4, p. 166-168, 2005.

PATERSON M. E. L.; ALLEN, J.; JORDAN, J. A. Effects of the climacteric and sequential mestranol and norethisterone on the cervix and genital tract. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 89, p. 657-664, 1982.

PICCOLI, R. et al. Atypical squamous cells and low squamous intraepithelial lesions

in postmenopausal women: Implications for management. **European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology**, v. 140, n. 2, p. 269-274, 2008.

PLUMMER, M. et al. A 2-year prospective study of human papillomavirus persistence among women with a cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intraepithelial lesion. **The Journal of infectious Diseases**, v. 195, n. 11, p. 1582-9, 2007.

PRENDIVILLE, W., J. et al. Medical dilatation of the non-pregnant cervix: the effect. **An International Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 93, n. May, p. 508-511, 1986.

PRETORIUS, R. G.; ZHANG, W.; BELINSON, J. L. Colposcopically directed biopsy , random cervical biopsy , and endocervical curettage in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia II or worse. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 191, p. 430-434, 2004.

RADER, A. E. et al. Atypical squamous cells of undetermined significance in women over 55. Comparison with the general population and implications for management. **Acta Cytologica**, v. 43, n. 3, p. 357-362, 1999.

RAHN, D. D. et al. Vaginal estrogen for genitourinary syndrome of menopause: a systematic review. **Reproductive Sciences**, v. 124, n. 6, p. 1130-1136, 2014.

RAJKUMAR, T. et al. Cervical carcinoma and reproductive factors: Collaborative reanalysis of individual data on 16,563 women with cervical carcinoma and 33,542 women without cervical carcinoma from 25 epidemiological studies. **International Journal of Cancer**, v. 119, n. 5, p. 1108-1124, 2006.

RAMA, C. H. et al. Rastreamento anterior para câncer de colo uterino em mulheres com alterações citológicas ou histológicas. **Revista de Saúde Pública**, v. 42, n. 3, p. 411-419, 2008.

RATREE, S. et al. Histopathology of women with “atypical squamous cells cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion” (ASC-H) smears. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 20, n. 3, p. 683-686, 2019.

REAGAN, J. W. A study of in situ and squamous-cell cancer of the uterine cervix. **Cancer**, v. 6, p. 1200-14, 1953.

REES, M. et al. EMAS clinical guide: Low-dose vaginal estrogens for postmenopausal

vaginal atrophy. **Maturitas**, v. 73, n. 2, p. 171-174, 2012.

REICH, O. et al. Defining the Cervical Transformation Zone and Squamocolumnar Junction: Can We Reach a Common Colposcopic and Histologic Definition? **International Journal of Gynecological Pathology**, v. 36, n. 6, p. 517-522, 2017.

REMOUE, F. et al. High intraepithelial expression of estrogen and progesterone receptors in the transformation zone of the uterine cervix. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 189, n. 6, p. 1660-1665, 2003.

RICHARDS, A.; DALRYMPLE, C. Abnormal cervicovaginal cytology, unsatisfactory colposcopy and the use of vaginal estrogen cream: An observational study of clinical outcomes for women in low estrogen states. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 41, n. 3, p. 440-444, 2015.

RICHART, R. M. A modified terminology for cervical intraepithelial neoplasia. **Obstetrics & Gynecology**, v. 75, n. 1, p. 131-3, 1990.

ROBERTS, A. D. G.; CORDINER, J. W.; HART, D. M. The Value of Cervical Colposcopic Assessment in the Management of Genital Hormone Deficiency. **Colposcopy and Gynecologic Laser Surgery**, v. 2, n. 3, p. 141-146, 1986.

ROSENBLATT, C. et al. **HPV na Prática Clínica**. 1ª ed., 2005.

ROURA, E. et al. The influence of hormonal factors on the risk of developing cervical cancer and pre-cancer: Results from the EPIC cohort. **PLoS ONE**, v. 11, n. 1, p. 1-17, 2016.

SAAD, R. S. et al. Cytomorphologic Analysis and Histological Correlation of High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions in Postmenopausal Women. **Diagnostic Cytopathology**, v. 34, n. 7, p. 467-471, 2006.

SANKARANARAYANAN, R.; SELLORS, J. W. Colposcopy and Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia. **World Health Organization - International Agency for Research on Cancer**, p. 1-132, 2003.

SAUNDERS, N. et al. Unsatisfactory colposcopy and the response to orally administered oestrogen: a random zed double blind placebo controlled trial. **An International Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 97, n. August, p. 731-733, 1990.

SELVAGGI, S. M. D. Clinical Significance of Atypical Squamous Cells Cannot Exclude High Grade Squamous Intraepithelial Lesion With Histologic Correlation—: A 9-Year Experience. **Diagnostic Cytopathology**, v. 36, n. 4, p. 245-251, 2008.

SCHIFFMAN, M. et al. Human papillomavirus and cervical cancer. **Lancet**, v. 370, n. 9590, p. 890-907, 2007.

SCHLECHT, N. F. Human Papillomavirus Infection and Time to Progression and Regression of Cervical Intraepithelial Neoplasia. **Cancer Spectrum Knowledge Environment**, v. 95, n. 17, p. 1336-1343, 2003.

SELLORS, J. W. et al. Prevalence of infection with carcinogenic human papillomavirus among older women. **Canadian Medical Association Journal**, v. 167, n. 8, p. 871-873, 2002.

SISCAN. MINISTÉRIO DA SAÚDE - BRASIL. **Sistema de informação do câncer**: versão 1.7.1. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2019. 1 base de dados. Disponível em: <http://siscan.saude.gov.br>. Acesso em: 7 ago, 2020.

SOLOMON, D. et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. **JAMA**, v. 287, n. 16, p. 2114-2119, 2002.

SOUSA, M. R.; RIBEIRO, A. L. P. Revisão Sistemática e Meta-análise de Estudos de Diagnóstico e Prognóstico : um Tutorial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 92, n. 3, p. 241-251, 2009.

STANLEY, M. A. Immune responses to human papilloma viruses. **The Indian Journal of Medical Research**, v. 130, n. 3, p. 266-276, 2009.

STIKA, C. S. Atrophic vaginitis. **Dermatologic Therapy**, v. 23, n. 5, p. 514-522, 2010.

STUMPF, W. E. Receptor localization of steroid hormones and drugs: discoveries through the use of thaw-mount and dry-mount autoradiography. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 31, p. 197-206, 1998.

TABRIZI, A. Atrophic pap smears, differential diagnosis and pitfalls: A review. **International Journal of Women's Health and Reproduction Sciences**, v. 6, n. 1, p. 2-5, 2018.

TAMBOURET, R. H.; WILBUR, D. C. The many faces of atrophy in gynecologic cytology. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 23, n. 3, p. 659-679, 2003.

TATTI, S.; BORNSTEIN, J.; PRENDIVILLE, W. Colposcopy: A Global Perspective. Introduction of the New IFCCPC Colposcopy Terminology. **Obstetrics and Gynecology Clinics of North America**, v. 40, n. 2, p. 235-250, 2013.

TAY, S. K.; SINGER, A. **The effects of Oral Contraceptives Steroids, Menopause and Homone Replacement Therapy on the Cervical Epithelium**. In: *The Cervix*. 2^a Ed. 2006.

TEIXEIRA, L. A.; LÖWY, I. Imperfect tools for a difficult job: Colposcopy, "colpocytology" and screening for cervical cancer in Brazil. **Social Studies of Science**, v. 41, n. 4, p. 585-608, 2011.

TEIXEIRA, L.; LANA, V. A colposcopia no diagnóstico precoce do câncer do colo do útero: a experiência norte-americana. **Revista Brasileira de História da Ciência**, v. 8, p. 39, 2015.

TIFAOU, N. et al. High-risk HPV detection and associated cervical lesions in a population of French menopausal women. **Journal of Clinical Virology**, v. 108, n. 4, p. 12-18, 2018.

TJALMA, W. A. A. Diagnostic performance of dual-staining cytology for cervical cancer screening: A systematic literature review. **European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology**, v. 210, p. 275-280, 2017.

WADDELL, C. A. The influence of the cervix on smear quality. I: Atrophy. An audit of cervical smears taken post-colposcopic management of intraepithelial neoplasia. **Cytopathology**, v. 8, n. 4, p. 274-281, 1997.

WALBOOMERS, J. M. et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. **The Journal of Pathology**, v. 189, n. 1, p. 12-19, 1999.

WANG, H. et al. Different regulation of oestrogen receptors α and β in the human cervix at term pregnancy. **Molecular Human Reproduction**, v. 7, n. 3, p. 293-300, 2001.

WEBER, M. A.; LIMPENS, J.; ROOVERS, J. P. W. R. Assessment of vaginal atrophy: a review. **International Urogynecology Journal and Pelvic Floor Dysfunction**, v. 26, n. 1, p. 15-28, 2015.

WHEELER, C. M. The Natural History of Cervical Human Papillomavirus Infections and Cervical Cancer. Gaps in Knowledge and Future Horizons. **Obstetrics and Gynecology Clinics of North America**, v. 40, n. 2, p. 165-176, 2013.

WILD, C. P. et al. **World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention**. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2020. Disponível em: <http://publications.iarc.fr/586>. Acesso em: 23 mar. 2020.

WILLIAMS, V. M. et al. HPV-DNA integration and carcinogenesis: Putative roles for inflammation and oxidative stress. **Future Virology**, v. 6, n. 1, p. 45-57, 2011.

WINKELSTEIN, W. Smoking and cervical cancer-current status: A review. **American Journal of Epidemiology**, v. 131, n. 6, p. 945-957, 1990.

WRIGHT, T. C. et al. Consensus Guidelines for the Management of Women With Abnormal Cervical Cancer Screening Tests. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 197, n. 4, p. 346-355, 2007.

YANG, Z. M. et al. Molecular mechanisms of estrogen receptor β -induced apoptosis and autophagy in tumors: implication for treating osteosarcoma. **Journal of International Medical Research**, v. 47, n. 10, p. 4644-4655, 2019.

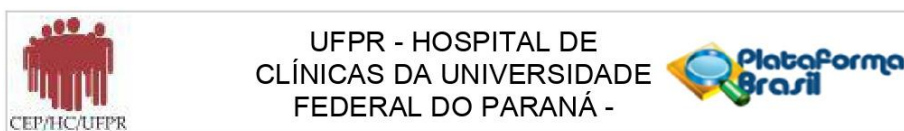
YOUNG, A.; COTTON, S.; CRUICKSHANK, M. E. Information needs of young women vaccinated against HPV attending colposcopy: A qualitative study. **BMC Women's Health**, v. 18, n. 1, p. 1-6, 2018.

ZEFERINO, L. C. et al. Guidelines for HPV-DNA testing for cervical cancer screening in Brazil. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia**, v. 40, n. 6, p. 360-368, 2018.

ZHAO, C. et al. Significance of high-risk human papillomavirus DNA detection in women 50 years and older with squamous cell Papanicolaou test abnormalities. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v. 134, n. 8, p. 1130-1135, 2010.

ZORK, N. M; MYERS, K. M.; YOSHIDA K, C. S. J. H. A Systematic Evaluation of Collagen Crosslinks in the Human Cervix. **American Journal of Obstetric and Gynecology**, v. 176, n. 3, p. 139–148, 2015.

ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS DO COMPLEXO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: A ATROFIA GENITAL E SUAS REPERCUSSÕES NA CITOLOGIA CERVICO

Pesquisador: Rita Maira Zanine

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 02993918.9.0000.0096

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.547.153

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de mestrado de estudo observacional retrospectivo de mulheres na menopausa encaminhadas ao ambulatório de colposcopia por citologia alterada como neoplasia intraepitelial de alto grau, neoplasia intraepitelial de baixo grau, ASC que não pode excluir lesão de alto grau asc-us, agh e carcinoma in situ. Avaliação de mulheres com 50 anos ou mais do banco de dados do ambulatório de colposcopia do HC/UFPR do período compreendido entre 2010 e 2018, encaminhadas por ASC que não pode excluir lesão de alto grau, ASC-US, lesão de alto grau e carcinoma in situ, AGUS, em sua citologia oncológica inicial, comparando com colposcopia e histologia.

Nas pacientes com colposcopia negativa e/ou insatisfatória, realização de estrogênio tópico sob a forma do seguinte protocolo: 21 dias de aplicação vaginal contínuo com pausa de 7 dias por 3 meses contínuos, de estrogênio conjugado (90%) ou estriol (10%) e reavaliação com nova coleta de citologia oncológica, colposcopia e biópsia ou CAF conforme a evolução.

Objetivo da Pesquisa:

Determinar como a terapia estrogênica local pode afetar a adequabilidade do exame citológico.

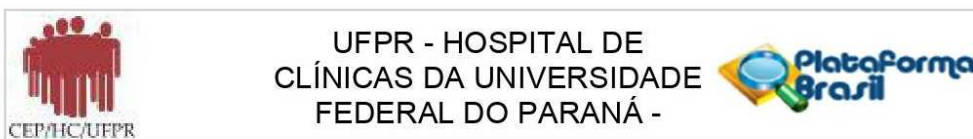
Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Risco de perda da confidencialidade, especificada pelos autores em carta anexa

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Encaminhado emenda para inclusão de Leila Caroline Souza Reis como parte da equipe de

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181
Bairro: Alto da Glória **CEP:** 80.060-900
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3360-1041 **Fax:** (41)3360-1041 **E-mail:** cep@hc.ufpr.br



Continuação do Parecer: 3.547.153

pesquisadores

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Emenda comunicando a inclusão de pesquisadora ao projeto

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HC-UFPR, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/2012 e na Norma Operacional N° 001/2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação da Emenda.

Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos. Manter os documentos da pesquisa arquivados.

É dever do CEP acompanhar o desenvolvimento dos projetos, por meio de relatórios semestrais dos pesquisadores e de outras estratégias de monitoramento, de acordo com o risco inerente à pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1412215_E1.pdf	09/08/2019 22:53:57		Aceito
Outros	0_CARTA_EMENDA.docx	09/08/2019 22:52:16	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Outros	emendaplataformabrasil_1.pdf	09/08/2019 22:51:23	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracaodecompromisso.pdf	09/08/2019 22:50:43	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Outros	QUALIFICACAO_PESQUISADORES_COLABORADORES.pdf	09/08/2019 22:49:22	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Declaração de Pesquisadores	CARTA_RESPOSTA_AO_CEP_atual.docx	02/04/2019 14:58:21	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_atualizado.docx	02/04/2019 14:58:00	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Outros	RESPOSTAAOCEP.pdf	15/03/2019	TATIANE ANDREIA	Aceito

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181

Bairro: Alto da Glória

CEP: 80.060-900

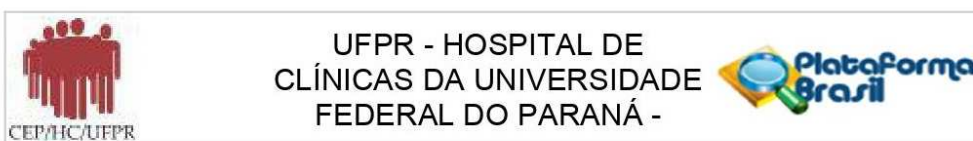
UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-1041

Fax: (41)3360-1041

E-mail: cep@hc.ufpr.br



Continuação do Parecer: 3.547.153

Outros	RESPOSTAAOCEP.pdf	15:30:05	SCHWINGEL	Aceito
Brochura Pesquisa	BROCHURA_CORRIGIDA.docx	15/03/2019 15:14:49	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	brochura.docx	15/02/2019 19:01:29	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TERMO_COMPROMISSO_PESQUISA DORES2.docx	14/12/2018 12:56:18	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	DISPENSA_TERMO_CONSENTIMENT O.pdf	14/12/2018 11:42:38	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termocompromisso.pdf	11/11/2018 20:35:11	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Declaração de Pesquisadores	USO_ESPECIFICO_MATERIAL2.pdf	11/11/2018 20:12:39	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Outros	check_list_2.pdf	04/11/2018 14:24:52	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Outros	check_list_1.pdf	04/11/2018 14:23:36	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termo_de_confidencialidade_com_pesq uisa.pdf	04/11/2018 14:11:28	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	ao_comite_etica.pdf	25/10/2018 22:40:01	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Declaração de Pesquisadores	membros_comissao_pesquisa.pdf	17/10/2018 12:13:44	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Orçamento	declaracao_ausencia_de_custos.pdf	17/10/2018 11:56:20	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	concordancia_unidades.pdf	17/10/2018 11:08:44	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO.pdf	17/10/2018 10:37:45	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Outros	CURRICULUM.docx	27/09/2018 09:32:22	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_responsabilidade_pesquisa.pdf	09/09/2018 21:57:42	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Outros	Carta_ao_CEP.pdf	09/09/2018 21:56:15	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracao_orientador.pdf	09/09/2018 21:48:22	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Declaração de Pesquisadores	tornar_publico_resultados.pdf	09/09/2018 21:44:05	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito
Outros	usar_dados_arquivos.pdf	09/09/2018 21:41:53	TATIANE ANDREIA SCHWINGEL	Aceito

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181

Bairro: Alto da Glória

CEP: 80.060-900

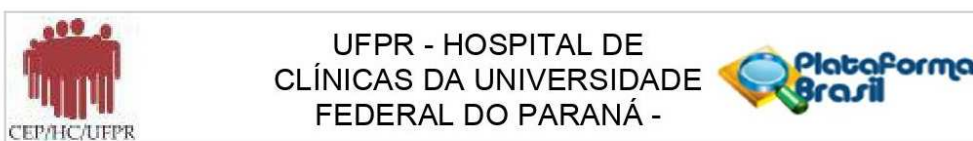
UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-1041

Fax: (41)3360-1041

E-mail: cep@hc.ufpr.br



Continuação do Parecer: 3.547.153

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CURITIBA, 02 de Setembro de 2019

Assinado por:
maria cristina sartor
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181
Bairro: Alto da Glória **CEP:** 80.060-900
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3360-1041 **Fax:** (41)3360-1041 **E-mail:** cep@hc.ufpr.br